UNIVERSITE DE BORDEAUX II
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences pharmaceutiques

Année 1975 – Thèse n° 688

HYPERLIPEMIE ET IMMUNISATION

Thèse pour le Doctorat de l'Université

(Mention Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement

le 28 février 1975

par Marie-Rose MAISONNAVE née LAPEZE
née le 4 juin 1944 à Orthez (Pyrénées-Atlantiques)
Pharmacien
C.E.S. d'Hématologie, d'Immunologie et de Parasitologie
Attaché de Faculté-Assistant de Sciences Fondamentales

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. F. TAYEAU,	Professeur	Président
M. G. DEVAUX,	Professeur	
M. R. DARGELOS,	Maître de Conférences Agrégé ..	Juges
M. E. JOUZIER,	Maître de Conférences Agrégé ..	
M. P. REBEYROTTE,	Maître de Recherches au CNRS	

Éditions Bergeret, 71, rue Leyteire - BORDEAUX
Tél. (56) 91.12.59

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547314_0003

UNIVERSITE DE BORDEAUX II
Unité d'Enseignement et de Recherche
des Sciences pharmaceutiques

Année 1975 – Thèse n° 688

HYPERLIPEMIE ET IMMUNISATION

Thèse pour le Doctorat de l'Université

(Mention Pharmacie)

Présentée et soutenue publiquement

le 28 février 1975

par Marie-Rose MAISONNAVE née LAPEZE
née le 4 juin 1944 à Orthez (Pyrénées-Atlantiques)
Pharmacien
C.E.S. d'Hématologie, d'Immunologie et de Parasitologie
Attaché de Faculté-Assistant de Sciences Fondamentales

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. F. TAYEAU,	Professeur	Président
M. G. DEVAUX,	Professeur	
M. R. DARGELOS,	Maître de Conférences Agrégé ..	Juges
M. E. JOUZIER,	Maître de Conférences Agrégé ..	
M. P. REBEYROTTE,	Maître de Recherches au CNRS	

Éditions Bergeret, 71, rue Leyteire - BORDEAUX
Tél. (56) 91.12.59

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A LA MEMOIRE DE MA GRAND-MERE

A MON MARI

A MES ENFANTS

A MON GRAND-PERE

A MES PARENTS

A MES BEAUX-PARENTS

A MES FRERES, A MES SŒURS

A MES BEAUX-FRERES, A MES BELLES-SŒURS

A MES ONCLES, A MES TANTES

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A Monsieur le Professeur J. MARQUEVIELLE

Professeur sans Chaire de Biochimie médicale
Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service
Docteur ès Sciences
Chevalier des Palmes académiques

A Madame le Docteur J. SECHET

Maître de Conférences agrégé de Biochimie médicale
Biologiste des Hôpitaux
Chevalier des Palmes académiques

Respectueux hommage.

A MES CAMARADES du Laboratoire de Biochimie médicale
A l'Université de Bordeaux II

A TOUS NOS COLLABORATEURS

et plus particulièrement,

A Madame Marie-Josée MAVIEL

et

A Madame Nicole GIROL
Secrétaire du Service

Dont l'aide efficace nous a été bien utile.

A NOS JUGES

A Monsieur Pierre REBEYROTTE

Maître de Recherches au Centre National
de la Recherche scientifique
Docteur ès Sciences
Croix de Guerre 1939-1945

Vous nous avez fait bénéficier de votre grande connaissance dans le domaine de la recherche biologique.

Nous vous remercions pour les conseils que vous nous avez toujours prodigués et pour la bienveillance dont vous avez toujours fait preuve à notre égard.

Nous tenons à vous exprimer notre sincère et respectueuse gratitude.

A Monsieur Etienne JOUSIER

Maître de Conférences agrégé de Biochimie pharmaceutique
Licencié ès Sciences

Vous avez suivi avec intérêt la progression de nos recherches ; votre connaissance des problèmes ayant trait aux hyperlipémies nous ont grandement aidée dans ce travail.

Soyez assuré de notre profonde reconnaissance et de nos plus sincères remerciements.

A Monsieur Robert DARGELOS

Maître de Conférences agrégé de Microbiologie
Licencié ès Sciences
Officier des Palmes académiques

Nous avons conservé un excellent souvenir de l'enseignement que vous nous avez dispensé au cours de nos études de pharmacie et c'est pour nous un honneur et un plaisir de vous compter au nombre de nos juges.

Permettez-nous de vous assurer de toute notre reconnaissance et de vous exprimer nos remerciements.

A Monsieur le Professeur Guy DEVAUX

Professeur sans chaire de Pharmacie chimique
Licencié ès Sciences

Vous nous faites aujourd'hui le grand honneur et le grand plaisir d'être parmi nos juges.

Nous avons pu a de nombreuses reprises profiter de vos travaux et en apprécier l'esprit de synthèse et la clarté.

Vous avez toujours été pour nous un conseiller éclairé et amical.

Veuillez trouver ici un témoignage de notre profond attachement.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

A Monsieur le Professeur F. TAYEAU

Doyen Honoraire de la Faculté de Médecine et de Pharmacie
Professeur de Biochimie médicale A
Membre titulaire de l'Académie nationale de Médecine
Médecin Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service
Docteur ès Sciences
Officier de la Légion d'Honneur
Commandeur des Palmes académiques
Officier de l'Ordre national du Mérite
Chevalier de la Santé publique
Chevalier du Mérite agricole
Médaille de Vermeil du Service de Santé de la Marine
Officier du Mérite scientifique
Grand Croix de l'Ordre du St-Sépulcre de Jérusalem
Commandeur de l'Ordre national Sénégalais
Commandeur de l'Ordre national Ivoirien
Titulaire de l'Ordre Sépasse (1ère Classe) Iran
Titulaire (2ème Degré) de la Décoration Danesch (Iran)
Officier de l'Ordre national du Cèdre (Liban)
Docteur Honoris causa de l'Université de Téhéran (Iran)
Professeur Honoraire de l'Université de San Marcos de Lima (Pérou)

Vous nous avez inspiré le sujet de ce travail. Nous avons bénéficié de vos conseils éclairés qui nous ont fait apprécier l'immense étendue de vos connaissances et la remarquable fécondité de votre esprit.

Vous nous avez toujours reçue et conseillée avec bienveillance et sollicitude, sans jamais compter votre peine ni votre temps ; vous nous avez apporté une aide particulièrement précieuse dans la rédaction de ce travail.

C'est avec émotion que nous vous exprimons aujourd'hui notre vive gratitude et vous assurons de notre très profond et très sincère attachement.

HYPERLIPÉMIE ET IMMUNISATION

*

Travail effectué
au Laboratoire de Biochimie médicale A
de l'Université de Bordeaux II
(Professeur F. TAYEAU)

I N T R O D U C T I O N

Le service de biochimie médicale A de l'Université de Bordeaux II a, depuis près de quarante ans, orienté l'essentiel de son activité sur les problèmes ayant trait aux lipides. Un certain nombre de thèses ont été présentées sur ce sujet et portent principalement sur les types de liaisons unissant ces substances aux protéines (x) et sur leur rôle dans la réaction antigène-anticorps (xx).

Au cours d'une recherche déjà ancienne, relatée dans une revue générale sur le syndrome de la fatigue (57), notre maître, M. le Professeur TAYEAU, avait noté que *l'immunisation* chez le lapin amenait une excrétion très augmentée des glycoprotéines urinaires ; cette excrétion reflétait l'élévation des glycoprotéines plasmatiques (74). Or quelques années plus tard, TAYEAU et JOUZIER (67) notaient que les mucoprotéines constituaient les inhibiteurs naturels du facteur clarifiant et mettaient en évidence *l'hyperlipémie* qui accompagnait habituellement l'hyperglycoprotéinémie (66).

(x) : *MARTIN M. (Ph., 1944), BUFFE G.M. (Ph., 1949), ROLLAND R. (Méd., 1947), JOLIN J. (Ph., 1953), NIVET R. (Ph., 1953), REISS D. (Sc., 1963), AUBERTIN J. (Sc., 1963), BALLIVIAN-ROSADO L. (Ass. Etr., 1964), JOUZIER E. (Ph., 1968).*

(xx) : *PAUTRIZEL R. (Sc., 1948, NEUZIL E. (Méd., 1948), FAURE F. (Sc., 1953), CAPDEJELLE J. (Ph., 1954), MARQUEVIELLE J. (Sc., 1955), KHAYER E. (Ass.Etr., 1961), (REISS D.)(Med., 1964).*

A la suite de ces recherches, TAYEAU se demanda si l'hyperglycoprotéinémie consécutive à l'immunisation ne serait pas génératrice d'hyperlipémie. Cette hypothèse fut, quelques temps après, vérifiée par l'expérience et fit l'objet d'une note préliminaire à l'Académie de médecine (66).

Lorsque nous sommes venue lui demander un sujet de travail en vue d'une thèse, notre maître, M. le Professeur TAYEAU, nous confia l'étude détaillée de ce phénomène. Les résultats que nous avons obtenus font l'objet de cette thèse.

Notre travail comportera deux parties.

La première comprendra une étude historique et bibliographique sur les recherches antérieures en rapport avec notre sujet de travail : dans un premier chapitre, nous analyserons les publications concernant les rapports entre l'immunisation et la lipémie ; dans un second chapitre, nous passerons en revue nos connaissances sur les glycoprotéines plasmatiques et urinaires et spécialement sur l'inhibiteur du facteur clarifiant, ce dernier constituant l'un des points de départ de notre étude.

La seconde partie comportera les résultats de nos travaux et leur interprétation : dans le premier chapitre, nous exposerons nos recherches sur l'hyperlipémie et l'hyperglycoprotéinémie, qui suit l'immunisation ; dans le second chapitre, nous envisagerons les variations des substances lipidiques sériques au cours de l'immunisation ; dans un troisième chapitre, nous étudierons les lipoprotéines sériques ; dans un quatrième chapitre enfin, nous porterons notre attention sur les glycoprotéines éliminées au cours de l'immunisation.

Avant d'exposer nos résultats, nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à tous ceux qui, par leurs conseils et leur aide, nous ont permis de mener à bien la tâche qui nous avait été confiée.

Madame M.J. MAVIEL, technicienne du laboratoire, nous a fait profiter de ses capacités techniques et nous a beaucoup aidée dans la réalisation de certaines de nos expériences. Monsieur le Professeur MARQUEVIELLE, Madame le Professeur agrégé SECHET, M. le Professeur agrégé JOU-

ZIER ne nous ont jamais ménagé leurs conseils et leurs critiques, qui nous ont été très utiles. M. Pierre REBEYROTTE, Maître de recherches au CNRS, a suivi de près notre expérimentation. Ses connaissances particulièrement étendues dans le domaine de la recherche ont souvent été mises à contribution et nous ont rendu de grands services.

Que tous soient très profondément remerciés.

Enfin, notre maître, M. le doyen TAYEAU, Membre de l'Académie de Médecine, nous a inspiré le thème du présent travail. Tout au long de notre expérimentation, il nous a guidée avec une constante sollicitude et nous a fait bénéficier de sa large culture scientifique. Il s'est intéressé de près à nos travaux, nous suggérant les manipulations les mieux adaptées et les plus démonstratives, nous aidant à en dégager les meilleures conclusions.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre déférente gratitude, de notre vive et sincère admiration et de notre filial attachement.

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

C H A P I T R E I

Hyperlipémie et Immunisation

C'est au cours de recherches sur l'athérosclérose expérimentale que la hausse des lipides consécutive à l'immunisation a été signalée. Il est, en effet, possible de produire chez l'animal (lapin) un syndrome athéroscléreux, en lui injectant des broyats d'organes provenant de la même espèce ou d'une espèce différente. L'animal élabore alors des auto-anticorps dans le premiers cas, des hétéro-anticorps dans le deuxième cas vis-à-vis des constituants de ce broyat. L'examen du sang des animaux ainsi traités a révélé que, dans certains cas, il apparait une hausse des lipides sanguins (21, 5, 39, 52) et en particulier du cholestérol. Cette hyperlipémie a été étudiée par BEAUMONT et coll. (7), qui ont réalisé un travail de grande envergure, que nous estimons opportun de décrire en détail.

Quatre vingt dix huit lapins, soumis à un régime normal, sans excédent de cholestérol, étaient divisés en plusieurs lots et soumis à des injections d'antigènes divers :

a) certains animaux ont reçu par voie intramusculaire des protéines hétérologues variées (β-lipoprotéines purifiées humaines, β-lipoprotéines provenant de malades porteurs d'auto-anticorps, γ-globulines purifiées, sérum humain, broyat d'intima aortique de veau), avec adjuvant de FREUND.

b) d'autres ont été soumis à des injections intramusculaires de protéines homologues, avec ou sans adjuvant de FREUND et additionnées de protéines tissulaires hétérologues.

c) un troisième groupe a reçu par voie intraveineuse des protéines hétérologues avec ou sans adjuvant de FREUND.

d) ce groupe a reçu uniquement de l'adjuvant de FREUND.

e) ce groupe a été soumis à des injections de germes ou de substances toxiques.

f) ce dernier groupe enfin a reçu en même temps que l'adjuvant de FREUND des broyats de tissus homologues ou hétérologues et additionnés ou non de fractions protéidiques.

Les antigènes ont été injectés, suivant leur nature, de deux façons :

1°- par voie intramusculaire, à raison de 0,5 mg de protéines, deux fois par semaine, et cela pendant quatre semaines. Ils ont été injectés seuls ou bien en émulsion dans 1 ml d'adjuvant complet (Difco).

2°- par voie intraveineuse à doses croissantes en partant de 0,12 mg de protéines, pour atteindre 1 mg en six semaines.

Tous les animaux avaient subi une prise de sang avant les injections, puis chaque semaine ; la durée de l'expérience variait entre six et trente semaines.

De nombreuses analyses étaient alors effectuées sur le sang prélevé : recherche des hétéro-anticorps correspondant aux antigènes injectés (par immunoélectrophorèse, hémagglutination passive), dosage du cholestérol et des triglycérides, caractère de la migration des β-lipoprotéines (sur gélose, agarose, gel d'amidon), recherche éven-

tuelle d'auto-anticorps anti-lipoprotéines (immunoélectrophorèse, hémagglutination passive), numération et formule sanguine, test de Coombs direct et indirect, protéinogramme... En fin d'expérience, les aortes étaient prélevées et examinées. A partir des résultats obtenus, on peut faire de nombreuses constatations. Nous ne nous étendrons seulement que sur celles en rapport avec le travail que nous présentons.

Les auteurs notent qu'il existe deux types d'hyperlipémie : une hyperlipémie précoce et une hyperlipémie tardive.

L'Hyperlipémie précoce est très fréquente.Elle apparaît dès la seconde semaine ; elle augmente ensuite pour atteindre une valeur maximum entre la quatrième et la sixième semaine ; elle disparaît graduellement dès la fin des injections. Elle se rencontre pratiquement dans tous les groupes étudiés : elle apparaît nettement avec les antigènes hétérologues, surtout lorsque ceux-ci ont été accompagnés d'adjuvant de FREUND ; elle est modérée avec les antigènes homologues, plus nette lorsque ces derniers sont accompagnés d'adjuvant. Elles s'observe également lorsque l'adjuvant est injecté seul. Nous aurons l'occasion de revenir plus loin dans notre étude expérimentale sur ce cas particulier. Elle s'observe encore à la suite d'injections d'alcool. La voie d'introduction ne joue pas un rôle important. L'hyperlipémie observée concerne le cholestérol et surtout les triglycérides.

La recherche des hétéro-anticorps a été positives et suit la lipémie. Celle des auto-anticorps est toujours restée négative.

L'Hyperlipémie tardive. Celle-ci apparaît après l'arrêt des injections et se produit entre la huitième et la trente-troisième semaine de l'expérience.Elle concerne les triglycérides, le cholestérol et les β-lipoprotéines. Elle atteint des taux très élevés ; elle est contemporaine d'une grave altération de l'état général de l'animal. Des lésions aortiques sont apparues chez les animaux ayant présenté les lipémies les plus élevées.

Les hétéro-anticorps ont pu être mis en évidence ; la recherche des auto-anticorps s'est encore révélée négative.

Les auteurs expliquent l'hyperlipémie constatée par la présence des anticorps et rappellent à ce sujet les observations de TAYEAU (58) ayant montré l'importance des phospholipides dans la réaction antigène-anticorps *in vitro*. Ils pensent surtout qu'une réaction auto-immune pourrait être en cause ; ils estiment plausible de penser que "des antigènes de nature différente puissent, dans certaines conditions, stimuler non seulement les cellules immunocompétentes qui leur correspondent, mais aussi d'autres cellules correspondant à des auto-antigènes et, dans le cas particulier, à des auto-antigènes lipoprotéidiques. Dans cette hypothèse, l'hyperlipémie serait due à la présence, dans le sang des lapins immunisés, d'auto-anticorps semblables à ceux trouvés chez l'homme dans l'hyperlipémie par auto-anticorps (7)".

On conçoit alors que ces auto-anticorps, qui forment avec les lipoprotéines circulantes des complexes solubles, s'accumulent dans le sang et soient la cause de l'hyperlipémie.

Cette conception n'est pas exempte de critiques, la principale étant constituée par l'absence d'auto-anticorps dans le sérum des animaux traités : cette critique n'a pas échappé aux auteurs, qui avancent un certain nombre d'arguments en faveur de leur hypothèse et expliquent pourquoi la recherche des auto-anticorps s'est révélée négative.

1°- L'hypertriglycéridémie, l'hypercholestérolémie, les anomalies des β-lipoprotéines constatées chez les lapins se retrouvent chez l'homme porteur de β-lipoprotéines complexées à leur anticorps.

2°- L'anémie, l'hypoalbuminémie et les troubles de la coagulation constatés chez certains lapins sont en faveur d'un processus auto-immun.

3°- La présence de lipides dans les γ-globulines laisserait supposer la présence de complexes γ-globulines anticorps-β-lipoprotéines (voir aussi 5).

En ce qui concerne la recherche négative des auto-anticorps, les auteurs font remarquer qu'il est difficile de mettre en évidence la présence des auto-anticorps, lorsque ceux-ci sont liés aux β-lipoprotéines, leur antigène. Ils sont bien parvenus à un résultat chez l'homme, mais il leur semble que leur technique (7) n'est pas applicable au lapin. Ils supposent que les anticorps de cet animal sont peu agglutinables ou bien qu'ils sont de nature différente de ceux de l'homme.

Ils font aussi allusion à divers travaux relatifs à l'athérosclérose expérimentale et insistent sur le rôle particulier des complexes solubles dans la formation des lésions (GERMUTH), identiques à celles observées chez les animaux expérimentés.

Enfin, ils notent que chez l'homme, certaines hyperlipémies sont dues à l'existence d'auto-anticorps anti-lipoprotéines, qui forment avec les lipoprotéines des complexes solubles.

Les auteurs ne nient cependant pas que d'autres mécanismes pourraient être invoqués et ils écrivent à ce sujet que pour expliquer l'hyperlipémie, on pourrait être conduit à faire intervenir un mécanisme non immunitaire restant à trouver. Nous reviendrons sur ce point dans la partie expérimentale de notre travail.

°.°

C H A P I T R E II

LES GLYCOPROTEINES SERIQUES ET URINAIRES LEURS RAPPORTS AVEC LE FACTEUR CLARIFIANT (LIPOPROTEINE-LIPASE)

Les glycoprotéines (ou glucoprotéides) ont fait l'objet, depuis trente ans environ, d'un nombre considérable de recherches. Nous sommes loin aujourd'hui de "l'indosé glucidique" sur lequel POLONOVSKI avait très opportunément jadis attiré l'attention (43, 45) !

De nombreuses glycoprotéines du tissu conjonctif, du cartilage, de l'os, des sécrétions, du sang et de l'urine ont livré peu à peu les secrets de leur constitution et de leur structure ; on trouvera une importante documentation sur ce sujet dans certains ouvrages classiques (44, 25, 15) et en particulier dans une récente revue de MONTREUIL (40).

I - NOMENCLATURE.

Tous les problèmes relatifs aux glycoprotéines présentent des difficultés en ce qui concerne la nomenclature, qui s'est considérablement modifiée depuis quelques années.

Pendant longtemps, la plupart des glycoprotéines des humeurs et des sécrétions ont été réunies sous le vocable de *mucopolysaccharides*, terme créé par MEYER et qui correspondait aussi bien aux dérivés polysaccharidiques à base d'hexosamines qu'à leurs combinaisons avec des protides.

Le terme de mucopolysaccharide est devenu beaucoup plus précis : on appelle aujourd'hui mucopolysaccharides des polyosides hétérogènes, résultant de la condensation d'un nombre élevé de sous-unités disaccharidiques élémentaires, constituées généralement par une molécule d'acide hexuronique, unie à une molécule d'hexosamine, porteurs de groupements N-acétylés ou de groupements sulfatés ou bien des deux. Les copules glucidiques et protidiques sont unies par des liaisons covalentes (xylose-sérine ou xylose-thréonine) ouélectrovalentielles (COOH, NH_2-lysine) ou bien les deux. Au terme mucopolysaccharide, on préfère celui de *glycosaminoglycanne* (JEANLOZ, 1960), qui est maintenant couramment utilisé.

Les glycosaminoglycannes peuvent s'unir par des liaisons covalentes à une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. BALAZS (1967) a proposé de désigner la combinaison par le terme de *protéoglycannes*, dans la mesure où la fraction glucidique est quantitativement dominante par rapport à la fraction protéidique.

La plupart des auteurs qui étudient ces dernières substances dans les tissus ou dans l'urine utilisent néanmoins le terme de glycosaminoglycannes, même quand elles renferment des protéines (DORFMAN, KAPLAN, CHAKRAPANI, ALLALOUF, etc...). Pour notre part, nous utiliserons également dans le même sens le terme de glycosaminoglycannes, consacré par l'usage (voir chapitre IV).

A coté de ces susbtances, il convient de réserver une place toute particulière aux glycoprotéines. Ces substances relèvent de l'union d'une fraction protéidique avec de courtes chaînes glucidiques, fixées latéralement ou en extrémité de la séquence polypeptidique. Les glycoprotéines sont abondantes dans le plasma sanguin et correspondent alors à un groupe, qui a été désigné sous le nom de *séromucoïdes* ; il existe plusieurs séromucoïdes (orosomucoïde, α_1-séromucoïde, haptoglobines, fétuine...). Parmi ces séromucoïdes, certains se montrent particulièrement riches en acide sialique, comme par exemple l'orosomucoïde et les haptoglobines, on les désigne parfois par le terme *sialoglycoprotéines*. Dans les glycoprotéines, la fraction protidique est dominante par rapport à la fraction glucidique.

Dans les expériences rapportées dans notre travail, et ayant trait au sérum sanguin, nous mettons en oeuvre des méthodes qui, sous le nom de glycoprotéines, dosent en réalité les glycoprotéines perchlorosolubles, c'est à dire les glycoprotéines acides (appelées autrefois par de nombreux auteurs *mucoprotéines)*.

Le terme glycoprotéine peut prêter parfois à confusion : dans le langage de la plupart des auteurs, il correspond à l'ensemble de toutes les combinaisons possibles entre les glucides et les protéines, ce qui éthymologiquement est parfaitement valable, alors qu'il a trait en réalité à une classe assez bien définie. Malheureusement, le sens très général de ce terme est, depuis longtemps, consacré par l'usage. Le terme de *glycoprotides*, utilisé par MONTREUIL (40), pourrait grouper tous les composés formés de glucides et de substances protidiques.

II - GLYCOPROTEINES SERIQUES.

Ce sujet présente une certaine complexité, en raison des nombreuses sous-fractions qui, peu à peu, ont été isolées, puis identifiées et aussi des nomenclatures différentes utilisées par les divers auteurs.

De nombreux articles et revues auxquelles nous avons fait appel, nous mentionnerons les fractions suivantes. Signalons qu'à l'électrophorèse, celles-ci se répartissent surtout dans les fractions α_1,α_2 et β-globulines ; on en trouve également dans les γ-globulines.

Fraction α_1.

α_1-glycoprotéine acide. Cette fraction, plus communément appelée orosomucoïde (WINZLER) ou encore α_1-séromucoïde acide (SCHMID), présente un poids moléculaire de 44 100 et renferme 62 p. 100 de protides.

α_1-antitrypsine. Elle est désignée encore par α_1-3-5-glycoprotéine ; son poids moléculaire est de 54.000 et renferme 86 p. 100 de protides.

α_1-*B-glycoprotéine*. Elle est appelée parfois : α_1-glycoprotéine facilement précipitable. Son poids moléculaire est de 50.000 ; elle renferme 89 p. 100 de protides.

α_1-*glycoprotéine pauvre en tryptophanne*. Parfois appelée α_1T-glycoprotéine. Son poids méloculaire est de 60.000 et elle contient 81 p. 100 de protides.

α_1-*X-glycoprotéine ou* α_1-antichymotrypsine. Son poids moléculaire est de 68.000 et elle contient 73 p. 100 de protides.

Fraction α_2.

Zn-α_2-*glycoprotéine*. Précipitée dans certaines conditions par les sels de zinc. Son poids moléculaire est de 41.000 ; elle contient 85 p. 100 de protides.

α_2-*HS-glycoprotéine*. Son poids moléculaire est de 49.000 ; elle renferme 87 p. 100 de protides.

α_2-*neuramino-glycoprotéine*. Son poids moléculaire est de 104.000 ; elle renferme 57 p. 100 de protides.

Haptoglobines (avec les génotypes 1-1, 2-2 et 1-2) (POLONOVSKI et JAYLE). Leur poids moléculaire est voisin de 100.000 et elles renferment environ 81 p. 100 de protides.

Fraction β

β_1-*glycoprotéine 1*. Son poids moléculaire est de 40.000 ; elle renferme 81 p. 100 de protides.

β_2-*glycoprotéine II* (ou C_3 réactive). Son poids moléculaire est de 60.000 et elle renferme 94 p. 100 de protides.

β_2-*glycoprotéine III*. Son poids moléculaire est de 35.000 et elle renferme 90 p. 100 de protides.

Fraction γ

Dans cette fraction, on trouve les IgG et les IgA, dont le rôle immunologique est considérable. Leur poids moléculaire est compris entre 150.000 et 900.000 et elles renferment de 88 à 97 p. 100 de protides.

Autres glycoprotéines.

Enfin, il existe d'autres glycoprotéines. Citons entre autres, les séromucoïdes α_2 (SCHULTZE) ; l'α_2-macroglobuline, qui renferme 92 p. 100 de protides et présente un poids moléculaire de 820.000 ; la protéine C réactive (CRP) de SCHEIFFARTH, de poids moléculaire 135.000 à 140.000; la fétuine de PEDERSEN, de poids moléculaire 40.000, renfermant 78 p. 100 de protides et se conduisant comme une α_1-globuline ; la céruléoplasmine, transporteur de cuivre ; la prothrombine ; la transferrine ou sidérophiline, qui transporte le fer ; la transcortine, de poids moléculaire 53.000, qui assure le transport des hormones corticosurrénales, etc...

Parmi toutes ces glycoprotéines, nous retiendrons surtout celles, les plus abondantes d'ailleurs, dont la concentration augmente le plus dans le syndrome biologique que nous étudions. Ces glycoprotéines correspondent pour la plupart aux *sialoglycoprotéines*, en raison de leur richesse relative en acide sialique ; elles sont surtout représentées par l'orosomucoïde et les haptoglobines.

Bien souvent, dans un but de clarté, on se contente de mentionner les fractions électrophorétiques. C'est ainsi que l'on parle généralement d'α_1, d'α_2 ou de β-glycoprotéines.

HYPERGLYCOPROTEINEMIE

Il a été démontré, il y a longtemps déjà, qu'au cours de certaines agressions, les glycoprotéines plasmatiques subissent une hausse parfois très importante. Les agressions les plus diverses ont été étudiées ; traumatisme, blessure, fracture, intoxications, brûlures, affections bactériennes et virales, cancer...

On s'est demandé longtemps quel était le rapport entre ces agressions et la montée des glycoprotéines plasmatiques. Il y a quelques vingt ans, l'explication suivante était proposée (voir 57). Sous l'influence d'agents variés, rentrant dans le cadre de l'agression (REILLY) ou de la réaction d'alarme (SELYE), la substance fondamentale du tissu conjonctif subit de profondes altérations : elle se transforme en substance fibrinoïde, qui résulte de la précipitation de polyholosides à caractère acide sous l'influence d'une protéine basique (ALTSCHULER et ANGEVINE (1)) ; une dépolymérisation concomitente rendrait alors le produit hydrosoluble (de BRUX (10)). Cette dégénérescence tissulaire coïncide avec l'hyperglycoprotéinémie. Cette conception était à rapprocher des travaux de BADIN et de de BRUX (2) montrant que la *résorcidine*, glycoprotéine plasmatique, responsable de la réaction de VERNES au résorcinol, dont la concentration plasmatique augmente au cours de certaines agressions, présente des affinités tinctoriales comparables à celles de la substance fibrinoïde au cours de certaines maladies. La résorcidine était considérée par BADIN et CONAS (3) comme l'un des principaux constituants de la substance fibrinoïde passée à l'état de métabolite sanguin.

A la suite de nouvelles recherches portant particulièrement sur les modifications du tissu conjonctif au cours d'agressions (voir 6) et sur la biosynthèse hépatique des glycoprotéines, nos conceptions dans ce domaine ont été révisées et l'on admet que l'hyperglycoprotéinémie qui suit les agressions s'explique de la façon suivante.

Lorsque l'organisme subit une agression, il apparaît un certain nombre de phénomènes : à côté de la libération des cathepsines lysosomiales et des hormones mastocytaires (histamine, sérotonine), il se produit une activation de la collagénase extracellulaire ; celle-ci entraine

une perte de substance au niveau du tissu conjonctif et conséquemment la libération de peptides. HOUK (24), considère ces derniers comme le *primum movens* de la réaction déclenchant au niveau du foie la biogénèse du fibrinogène et des sialoglycoprotéines ; ces peptides interviendraient en activant les ARN messagers préexistants, ce qui expliquerait la rapidité du phénomène (SARCIONE (49,50,51)). Les sialoglycoprotéines sont alors libérées par le foie et passent dans la circulation. Parmi elles, l'haptoglobine est quantitativement la plus importante, viennent ensuite l'orosomucoïde et la fibrinogène, les autres α_1 et α_2-glycoprotéines augmentent dans une bien moindre proportion (26). Le mécanisme de formation de l'haptoglobine a été étudié en détail par JAYLE, HARTMANN, MOURAY et leurs collaborateurs (31, 42, 41).

L'étude électrophorétique du plasma, après l'agression, met toujours en évidence une hausse très nette des α_1 et des α_2-glycoprotéines (x). Suivant les cas (nature de l'agression, animal expérimenté, maladie humaine étudiée), on trouve des fractions qui n'existent pas ou peu à l'état normal (voir 40).

Cette élévation des glycoprotéines plasmatiques n'est pas sans avoir une certaine répercussion sur les glycoprotéines urinaires.

III - GLYCOPROTEINES URINAIRES.

Le problème des protéines urinaires ne manque pas de complexité. A l'état normal, la quantité de protéines contenue dans l'urine est de l'ordre de 50 mg par litre. En concentrant l'urine, il est possible de pratiquer une analyse immuno-électrophorétique des protéines ; on iden-

(x) *Ceci est facilement mis en évidence par une électrophorèse à pH 3,9 et coloration par le bleu de toluidine ou le bleu alcian.*

tifie ainsi la plupart des fractions du plasma : albumine, orosomucoïde, α_1-antitrypsine, α_1-lipoprotéine, α_2-Zn-glycoprotéine, transferrine, hémopexine, α_2-Gc-globuline, βIE, γ A et γ G-globulines, etc...

A l'état pathologique, on peut trouver une augmentation considérable de certaines de ces fractions (sérum-albumine) et l'apparition de fractions nouvelles (albumine de BENCE-JONES par exemple).

Seules les glycoprotéines et substances apparentées nous retiendront.

Il convient de signaler tout d'abord que l'on rencontre dans l'urine des fractions glycoprotéidiques qui n'existent pas dans le plasma et dont l'origine n'est pas toujours connue.

Parmi les fractions glycoprotéidiques normales, nous mentionnerons :

- *des glycopeptides*, d'un poids moléculaire variant entre 10.000 et 15.000, renfermant 20 à 50 p. 100 de protides et riches en acide sialique (BOURILLON).

- *des glycoprotéines*, d'un poids moléculaire de 10.000 à 30.000, très riches en glucides. C'est dans ce groupe que l'on trouve les hormones peptidiques et divers enzymes.

- *des glycoprotéines*, de poids moléculaire un peu plus élevé et dans lesquelles le rapport protéines/glucides est supérieur à l'unité (*mucoprotéines*). C'est dans ce groupe que l'on rencontre la substance responsable du phénomène d'obstacle de DONAGGIO, de poids moléculaire 44.100 (voir 57).

- *des mucopolysaccharides* acides, ou *glycosaminoglycannes*, comprenant diverses substances appartenant aux sécrétions ; ces glycosaminoglycannes sont souvent unis à des protéines et sont alors désignés parfois par le terme protéoglycannes ; dans ces derniers, la copule glucidique est, nous l'avons vu précédemment, toujours quantitativement prédominante.

- *la glycoprotéine de TAMM et HORSFALL*, désignée sous le nom *d'uromucoïde* et qui possède la propriété d'empêcher l'hémagglutination causée par certains virus (influenza) ; cette glycoprotéine renferme 20 p. 100 de glucides ; elle est riche en acide sialique. Son poids moléculaire est très élevé (plusieurs millions).

Lorsque l'organisme se trouve soumis à une agression, le taux des glycoprotéines éliminées dans l'urine augmente ; c'est alors qu'apparaît, comme l'a montré TAYEAU (57) jadis, une réaction de DONAGGIO positive.

PHENOMENE D'OBSTACLE DE DONAGGIO

DONAGGIO (18) a décrit, en 1933, un test urinaire simple et rapide, désigné sous le nom de phénomène d'obstacle et considéré souvent comme un bon test de la fatigue musculaire.

La réaction est fondée sur le principe suivant : lorsque l'on mélange une solution de molybdate d'ammonium et une solution de thionine, il apparaît rapidement un précipité violet surmonté par un liquide clair : or, certaines urines ajoutées au mélange possèdent la propriété d'inhiber cette réaction et le liquide reste coloré : la réaction est dite positive.

DONAGGIO a tenté de rendre quantitative sa réaction en faisant effectuer un certain nombre de mélanges contenant des quantités variables de réactifs : la réaction est dite très positive lorsque l'urine inhibe la précipitation de solutions concentrées de molybdate et de thionine ; elle est faiblement positive lorsque seule la précipitation de solutions diluées de réactifs se trouve inhibée. DONAGGIO réalise deux séries de réactions, qu'il appelle les deux phases, l'une s'effectuant à la température ordinaire, l'autre à la température de l'ébullition (voir 56).

Après avoir appliqué sa technique à de nombreuses urines, DONAGGIO a reconnu qu'après l'effort musculaire et au cours de certaines maladies fébriles, la réaction se montre très positive. Il a cherché en outre à mettre en évidence la substance responsable des urines positives ; après avoir constaté que la dialyse de l'urine ne modifie pas la réaction et noté l'absorption de la substance responsable par le charbon, DONAGGIO conclut que cette dernière est "colloïdale" et que la réaction constitue un phénomène de protection "colloïdale".

Un certain nombre de recherches ont été réalisées en vue d'isoler, parmi les constituants urinaires, le responsable de la réaction positive. Les susbtances les plus variées ont été incriminées (voir 57). Après un certain nombre de recherches préliminaires (73, 56), TAYEAU est parvenu à isoler la substance responsable. Le produit obtenu se présente sous la forme d'une poudre amorphe, de couleur grise, soluble dans l'eau, qu'elle colore en brun foncé.

Mettant en jeu l'hydrolyse, l'analyse chimique et la chromatographie, TAYEAU, BISERTE, MONTREUIL et Mme MARQUEVIELLE (59) ont pu montrer que ce glycoprotéide renferme 25 p. 100 de glucides et identifier ses consituants, qui ont pu être dosés par la suite (BISERTE, TAYEAU, MONTREUIL, HOLLEMAN et DAUTREVAUX (8)).

a) Acides aminés (p. 100)

Cystine	0,65	Phénylalanine	3,0
Glycocolle	14,2	Lysine	4,9
Alanine	7,3	HYdroxyproline	1,3
Sérine	7,3	Acide glutamique	14,0
Thréonine	6,8	Acide aspartique	11,0
Proline	5,6	Histidine	2,1
Valine	5,1	Arginine	4,4
Leucine	9,6	Tyrosine	2,1
		Tryptophanne	présence

b) Glucides (proportions moléculaires)

Galactose	10	Fucose	7
Glucose	2	Osamine	11
Mannose	7	Acides uroniques	traces

La faible valeur du rapport polyholosides/protéines a permis de ranger cette substance dans la classe des mucoprotéines. Les groupements C-terminaux et N-terminaux de la copule protéidique ont été déterminés (8).

La substance responsable de la réaction de DONAGGIO préparée suivant la technique originale de TAYEAU (56), a pu être fractionnée sur amidon (tampon à pH 8,6, 700 volts pendant 8 heures) et donner naissance à quatre sous-fractions, numérotées de I à IV. La fraction I se montre inactive et la fraction III à peine active ; en revanche, les fractions II et IV manifestent une importante activité.

Le mécanisme de la réaction de DONAGGIO a pu être complètement élucidé (TAYEAU, JENSEN et REISS (61)) et une technique de dosage des mucoprotéines urinaires a été mise au point (TAYEAU, JENSEN et REISS (63)).

Alors que l'on ne connaissait pas encore la nature de la substance responsable du phénomène d'obstacle, de nombreux auteurs avaient signalé la positivité de la réaction de DONAGGIO sous l'influence des agressions les plus variées (voir 57). Les agressions provoquent donc une augmentation des glycoprotéines urinaires.

L'immunisation, souvent génératrice d'hyperlipémie, n'allait pas faire exception à la règle et, dès 1954, TAYEAU (57) démontrait que chaque injection d'antigène chez le lapin amenait une augmentation de la valeur de la réaction d'obstacle (fig. 1).

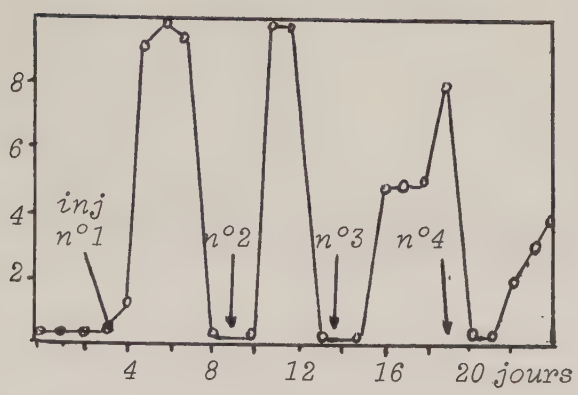

Fig. 1

Courbe représentative des variations de l'élimination des mucoprotéines (exprimées par l'intensité de la réaction de DONAGGIO (tube A') en fonction du temps et des injections d'antigène (d'après TAYEAU (57)).

Nous reviendrons sur ce point particulier dans la partie expérimentale de notre travail. Quoi qu'il en soit, il était frappant de constater que les divers types d'agression produisaient non seulement de l'hyperglycoprotéinémie, mais encore de la glycoprotéinurie (mucoprotéinurie).

Existait-il un certain parallélisme entre les deux phénomènes ? TAYEAU, NEUZIL, NIVET et GROUILLE (74) ont prouvé qu'il en était bien ainsi. Pour cela, ils soumettaient des lapins à des saignées abondantes et répétées afin de provoquer chez ces animaux de l'hyperglycoprotéinémie (WERNER (78)) et ils suivaient parallèlement l'élimination des glycoprotéines de l'urine (par le test de DONAGGIO) et le taux des glycoprotéines plasmatiques. La figure 2 montre le parallélisme qui existe entre les deux phénomènes.

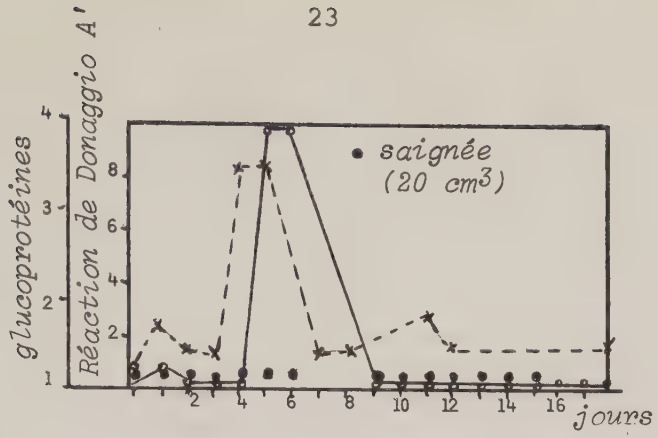

Fig. 2

Courbes représentatives des variations du taux des glycoprotéines plasmatiques (en g/l) et des glycoprotéines urinaires, exprimés par la réaction de DONAGGIO (tube A'), en fonction du temps et des saignées auxquelles est soumis le lapin (d'après TAYEAU et coll. (74)).

Les glycoprotéines qui apparaissent dans le sang et dans l'urine, chaque fois que l'organisme est soumis à une agression, ne sont pas sans perturber quelque peu certaines réactions du métabolisme intermédiaire. C'est ainsi que TAYEAU, JOUZIER et TIXIER (68) ont montré le rôle de ces glycoprotéines sur le métabolisme des lipides et particulièrement sur le facteur clarifiant. Etant donné l'importance de cet enzyme dans l'explication du phénomène que nous étudions, nous estimons opportun d'exposer l'essentiel de nos connaissances sur la question.

IV - LE FACTEUR CLARIFIANT (LIPOPROTEINE-LIPASE) (60) .

Pendant longtemps, la clarification post-digestive du plasma sanguin a préoccupé les physiologistes. Il y a seulement une trentaine d'années que l'on a commencé à entrevoir le phénomène. C'est à HAHN (22) que revient le mérite d'avoir effectué les premières expériences fondamentales : cet auteur avait constaté que la transfusion

d'un sang de chien, rendu incoagulable à l'aide d'héparine, à un autre chien en période post-digestive amenait la clarification du plasma de l'animal transfusé. Les anticoagulants autres que l'héparine ne permettaient pas la reproduction du phénomène. Par ailleurs, il suffit d'injecter de l'héparine à un animal en période post-digestive pour provoquer la clarification de son plasma sanguin. Enfin, l'héparine, ajoutée *in vitro* à un plasma lactescent, se montre absolument inactive. Il fallait donc conclure que l'injection d'héparine suscitait la libération dans la circulation d'un facteur capable de clarifier le plasma, rendu lactescent par l'arrivée des graisses provenant de la digestion ou encore éventuellement des réserves.

Nature du facteur clarifiant.

Grâce à diverses techniques et à la chromatographie en particulier, on a pu isoler le facteur clarifiant. Celui-ci est une protéine. Si la purification est très poussée (passages successifs sur des colonnes de phosphate tricalcique), le produit devient inactif ! Cette perte d'activité se trouve liée au "départ" de l'héparine, retenue par l'adsorbant.

L'héparine, non seulement est capable de susciter l'apparition du facteur clarifiant, mais encore se montre nécessaire à son action. Certaines substances présentant une parenté avec l'héparine peuvent se substituer à cette dernière (chondroïtine-sulfate, polysaccharides bactériens, acide hyaluronique, acides alginiques, sulfate de dextrane, extraits de muqueuses gastrique ou duodénale renfermant des mucopolysaccharides...) ; d'autres substances fort différentes (comme par exemple la désoxy-corticostérone et des dérivés voisins) sont également actifs ; on a pu isoler des produits de dégradation de l'héparine présentant une très grande activité (CANTONE (14)).

Le facteur clarifiant se trouve surtout dans le coeur et le tissu adipeux, mais aussi dans le muscle, le poumon, le foie, l'aorte, etc.

Le substrat.

La lactescence du plasma est provoquée par l'apparition de graisses, sous forme de chylomicrons. Ceux-ci, qui renferment des glycérides, des phospholipides, du cholestérol et des protéines, présentent une taille de 0,3µ à 1 µ. A l'électrophorèse en veine liquide, ils migrent avec les α_2-globulines et se trouvent dans la fraction III de COHN. A jeun, le plasma en renferme 3 millions environ par mm^3, mais en période digestive, on en trouve de 30 à 80 millions.

Malgré leur comportement électrophorétique en veine liquide, les chylomicrons peuvent être considérés comme de grosses β-lipoprotéines ; d'ailleurs le facteur clarifiant agit aussi bien sur les β-lipoprotéines que sur les chylomicrons.

La clarification.

Celle-ci peut être étudiée au photomètre par la mesure de la diminution de l'opacité en fonction du temps, après addition de facteur clarifiant à un sérum lactescent. Après action du facteur clarifiant, le taux des glycérides diminue et celui des acides gras et du glycérol augmente. Le facteur est donc une lipase (lipoprotéine-lipase de KORN (28)).

Le facteur clarifiant n'exerce aucune action sur une émulsion d'huile (KORN) ; il n'en est plus de même en présence de sérum. Cela est dû au fait qu'un "récepteur" est nécessaire pour la fixation et la solubilisation des acides gras libérés. Le récepteur naturel est la sérum-albumine (ROBINSON).

Activateurs-inhibiteurs.

Comme tout enzyme, le facteur clarifiant est activé par certaines substances (nicotamide, pyridoxal, glucides divers), inhibé par d'autres (sels biliaires, sulfate de protamine).

L'existence d'un inhibiteur naturel avait même pu être mis en évidence ; selon HOLLET et MENG (23), il s'agirait d'une glycoprotéine. C'est cette constatation qui a incité TAYEAU, JOUZIER et TIXIER (68) à étudier l'effet des glycoprotéines urinaires dont il est question ci-dessus, et à constater que ces substances présentent des propriétés inhibitrices très nettes vis-à-vis de la lipoprotéine-lipase.

Les auteurs ont étudié le phénomène *in vitro* (68) puis *in vivo* (69) et ont pu montrer ainsi que les glycoprotéines, lorsqu'elles atteignaient dans le plasma un certain taux, étaient génératrices d'hyperlipémie. Cela se conçoit très bien lorsque l'on sait le rôle joué par le facteur clarifiant dans le métabolisme lipidique.

Lorsque les graisses digestives arrivent dans la veine sous-clavière gauche après avoir traversé les chylifères et le canal thoracique, elles se trouvent à l'état de triglycérides et, nous l'avons signalé plus haut, sous forme de chylomicrons et de β-lipoprotéines. Leur avenir est assuré grâce à la lipoprotéine lipase, qui hydrolyse ces glycérides et libère les acides gras, qui sont alors utilisés par les tissus. Si le facteur clarifiant est inhibé, les triglycérides ne sont plus hydrolysés et ont tendance à s'accumuler en créant l'hyperlipémie.

Nous avons ainsi étudié dans ce second chapitre les rapports entre l'immunisation et l'hyperglycoprotéinémie, entre l'hyperglycoprotéinémie et la glycoprotéinurie, entre l'hyperglycoprotéinémie et l'hyperlipémie. Il reste maintenant à coordonner ces divers phénomènes. C'est le but de nos recherches expérimentales.

D E U X I E M E P A R T I E

RECHERCHES EXPERIMENTALES

C H A P I T R E I

L'HYPERLIPEMIE CONSECUTIVE A L'IMMUNISATION

Dans la première partie de ce travail, nous avons rappelé les travaux de BEAUMONT et coll. (7) ayant montré que deux périodes d'hyperlipémie suivaient l'immunisation chez le lapin : *une hyperlipémie précoce*, survenant trois à six semaines après l'injection initiale d'antigène et une *hyperlipémie tardive* survenant beaucoup plus tard.

L'hyperlipémie que nous avons étudiée paraît, à *priori* tout au moins, tout à fait différente de celles étudiées par cet auteur. L'hyperlipémie sur laquelle porte notre travail se produit en effet trente-six à quarante-huit heures après l'injection d'antigène ! Elle régresse ensuite rapidement.

Au cours de la discussion qui suivra l'exposé de nos résultats, nous essayerons de voir s'il existe un rapport entre ces diverses hyperlipémies ou bien si elles relèvent, au contraire, de mécanismes tout à fait différents.

Après avoir décrit notre protocole expérimental et mentionné les techniques mises en oeuvre dans nos essais, nous exposerons les résultats de notre première série d'expériences.

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

a) immunisation

Les lapins utilisés sont tous de la même race. Il s'agit de "Fauves de Bourgogne", mâles, pensant entre 2,8 et 3 kg.

Quand les lapins arrivent au laboratoire, nous les laissons s'acclimater pendant plusieurs jours avant de faire nos expériences, car nous avons constaté que le changement de nourriture (au laboratoire, ils sont exclusivement nourris de granulés) et le transport les perturbent sensiblement ; par ailleurs, nous avons noté que le taux des lipides et des protéines ne se régularise qu'après environ une semaine d'acclimatation. Cette semaine une fois passée, nous procédons aux premiers dosages. Nous effectuons d'abord un dosage-témoin sur chaque lapin avant de pratiquer toute injection d'antigène.

Nous leur prélevons alors une quantité minimum de sang, selon le protocole suivant. Nous introduisons l'oreille du lapin, dont la veine marginale a été préalablement incisée à l'aide d'un vaccinostyle ou d'une lame de rasoir, dans un erlenmeyer qui présente une tubulure à la base inférieure . Nous fixons sur cette tubulure, par l'intermédiaire d'un bouchon percé de deux trous, un tube à centrifuger gradué (en matière plastique) destiné à recueillir le sang. Le second trou du bouchon permet de relier l'ensemble à une trompe à vide qui favorise l'écoulement du sang. Pour réaliser cette opération, nous plaçons le lapin dans un coffre de bois conçu de telle sorte que seule la tête du lapin soit libre.

En dehors des prélèvements ou des injections, nous plaçons les lapins dans des cages à métabolisme, ce qui permet ainsi de recueillir éventuellement les urines nécessaires pour le dosage des glycoprotéines urinaires.

Après avoir prélevé la quantité nécessaire de sang pour les dosages, nous injectons l'antigène, en l'occurence une suspension de globules rouges de mouton, ainsi préparée : nous utilisons la suspension d'hématies de mouton des laboratoires Biolyon ; chaque sachet contient 2,5 ml de purée globulaire ; nous en prélevons 0,3 ml que nous mettons en suspension dans 9,7 ml d'eau physiologique, dont

2 ml sont injectés à l'animal dans la veine marginale de l'oreille, après épilation préalable de la région. Nous effectuons des prélèvements en vue des dosages après des temps variables. Nous procédons alors à une nouvelle injection d'antigène et nous effectuons de nouveaux prélèvements et ainsi de suite... Chaque fois, nous prélevons le minimum de sang en prenant bien soin d'éviter tout traumatisme.

Comme nous le verrons, nous présentons deux séries d'expériences : dans la première série, trois injections d'antigène sont effectuées pour des expériences durant vingt jours ; dans la seconde série, un plus grand nombre d'injections d'antigène sont réalisées et les expériences durent de cinquante et un à quatre vingt six jours.

b) *prélèvements.*

Nous prélevons le sang, comme nous l'avons indiqué ci-dessus, dans un tube à centrifuger en matière plastique bien sec ; nous le laissons coaguler dans le tube et, après avoir délicatement décollé le caillot formé, nous centrifugeons à 3 000 tours-minute pendant quinze minutes environ ; ensuite nous recueillons le sérum qui surnage à l'aide d'une propipette en prenant bien soin de ne pas effleurer le caillot. Lorsque le sérum renferme des globules en suspension, nous le soumettons à la centrifugation.

Sur la plupart de nos échantillons, nous effectuons les dosages suivants : lipides totaux, cholestérol total, cholestérol estérifié, phospholipides, triglycérides, glycoprotéines. Dans certaines de nos expériences, nous avons réalisé une chromatographie de l'extrait lipidique en couche mince sur gel de silice. Enfin, nous avons mesuré le volume de l'urine éliminée et nous avons déterminé le taux des protéoglycannes.

c) *techniques de dosage.*

Lipides totaux - Le dosage, fondé sur la méthode de KUMAGAWA-SUTO (29), consiste à épuiser plusieurs fois par l'alcool bouillant, puis à l'éther, l'échantillon de

sérum. Les extraits alcoolo-éthérés sont alors repris par le chloroforme. L'extrait chloroformique renferme les lipides totaux ; cet extrait peut être alors pesé après dessiccation sous vide et peut encore servir à divers autres dosages.

Glycoprotéines sériques - Technique de GREENSPAN, d'après WEIMER (77) (voir 30, p. 1460). Elle est fondée sur le fait que l'acide trichloracétique, l'acide perchlorique et l'acide sulfosalicylique précipitent tous les protides du sérum, sauf les glycoprotéines acides qui fournissent un complexe insoluble avec l'acide phosphotungstique. Ce complexe est dissous dans de la soude et le dosage des protéines qu'il renferme est réalisé par la technique colorimétrique au biuret.

II - GLYCOPROTEINES SERIQUES ET IMMUNISATION.

Dans une note préliminaire, TAYEAU, JOUZIER et SECHET (66) ont noté l'apparition d'une hyperlipémie chez le lapin moins de 48 heures après l'injection de l'antigène. Nous avons étudié le phénomène en détail. Nous nous sommes arrangée pour faire varier la teneur en glycoprotéines sériques en cours d'expérience, en effectuant des injections d'antigène, afin de voir dans quelle mesure le taux de la lipémie dépendait de la valeur de la glycoprotéinémie.

PREMIERE SERIE D'EXPERIENCES

Nous avons effectué sur chaque animal une prise de sang d'un volume minimum (5 ml), afin de pratiquer des dosages (lipides et glycoprotéines dans cette série d'essais) ; le quatrième et le sixième jour, nous effectuons de nouveaux dosages. Le dixième jour, nous procédons à une nouvelle injection d'antigène, les douzième, treizième et dix-septième jour, nous effectuons des dosages. Le dix

septième jour, nous faisons une dernière injection d'antigène. Enfin, nous effectuons de nouveaux dosages les dix-huitième et vingtième jour.

Les résultats obtenus se trouvent consignés dans les tableaux 1 et 2, 3, 4, 5 et 6, auxquels correspondent les figures 3,4, 5, 6, 7 et 8.

Tableau 1 (lapin 24)

Temps	*lipides (g/l)*	*glycoprotéines sériques (g/l)*
Départ	3,75	1,00
3e jour	injection de globules rouges de mouton	
4e jour	3,75	1,00
6e jour	4,15	1,58
10e jour	injection de globules rouges de mouton	
11e jour	4,15	
12e jour	4,15	1,58
13e jour	4,80	1,80
17e jour	3,90	1,00
	injection de globules rouges de mouton	
18e jour	7,10	2,84
20e jour	4,15	2,12

Tableau 2 (lapin 20)

Temps	lipides (g/l)	glycoprotéines sériques (g/l)
Départ	4,35	1,38
3e jour	injection de globules rouges de mouton	
4e jour	4,35	1,42
6e jour	6,00	2,20
10e jour	injection de globules rouges de mouton	
11e jour	6,00	
12e jour	6,00	2,20
13e jour	7,25	3,10
17e jour	6,10	2,05
	injection de globules rouges de mouton	
18e jour	8,10	3,84
20e jour	6,60	3,15

Tableau 3 (lapin 14)

Temps	*lipides (g/l)*	*glycoprotéines sériques (g/l)*
Départ	6,40	1,88
3e jour	injection des globules rouges de mouton	
4e jour	6,20	1,84
6e jour	7,00	2,40
10e jour	5,35	1,60
	injection des globules rouges de mouton	
11e jour	5,35	1,80
13e jour	4,00	1,60
17e jour	4,35	1,60
	injection des globules rouges de mouton	
18e jour	7,00	2,00
20e jour	4,35	1,20

Tableau 4 (lapin 15)

Temps	Lipides (g/l)	glycoprotéines sériques (g/l)
Départ	5,75	1,60
3e jour	injection des globules rouges de mouton	
4e jour	5,50	1,60
5e jour	6,75	2,88
10e jour	6,00	1,64
	injection des globules rouges de mouton	
11e jour	7,10	2,00
13e jour	4,15	1,60
17e jour	4,15	1,82
	injection des globules rouges de mouton	
18e jour	8,10	2,84
20e jour	5,00	2,00

Tableau 5 (lapin 16)

Temps	*Lipides (g/l)*	*glycoprotéines sériques (g/l)*
Départ	4,15	1,60
3e jour	injection des globules rouges de mouton	
4e jour	4,50	1,68
5e jour	6,00	2,40
10e jour	4,15	1,84
	injection des globules rouges de mouton	
11e jour	5,35	2,00
13e jour	6,75	1,60
17e jour	5,50	1,00
	injection des globules rouges de mouton	
18e jour	6,00	1,60
20e jour	4,75	1,20

Tableau 6 (lapin 17)

Temps	lipides (g/l)	glycoprotéines sériques (g/l)
Départ	5,50	1,60
	injection des globules rouges de mouton	
4e jour	5,15	1,60
5e jour	8,10	2,00
10e jour	6,20	1,60
	injection des gloubles rouges de mouton	
11e jour	7,65	1,84
13e jour	6,15	1,60
17e jour	4,50	1,52
	injection des globules rouges de mouton	
18e jour	6,75	1,88
20e jour	6,00	1,48

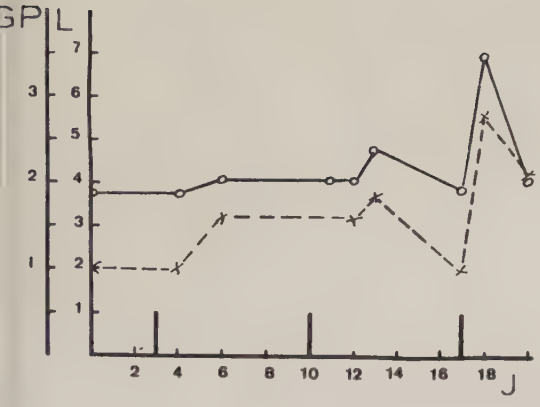

Fig. 3 (lapin 24)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

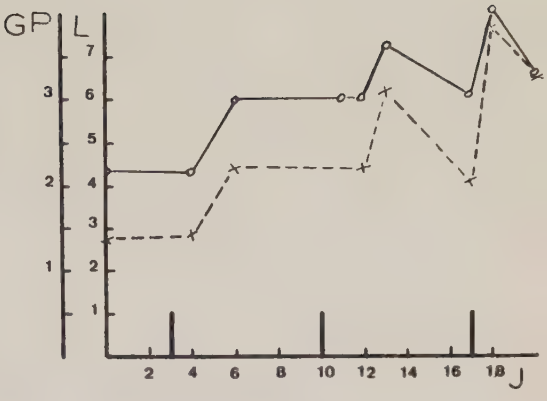

Fig. 4 (lapin 20)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

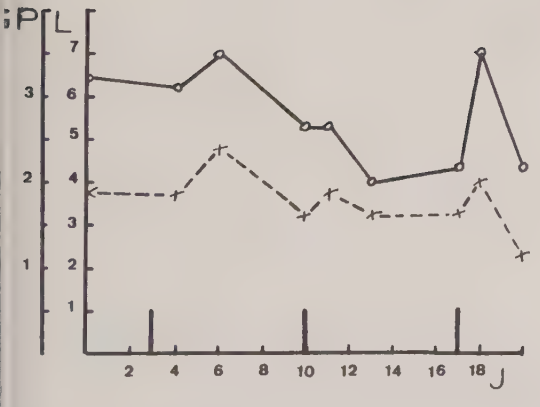

Fig. 5 (lapin 14)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

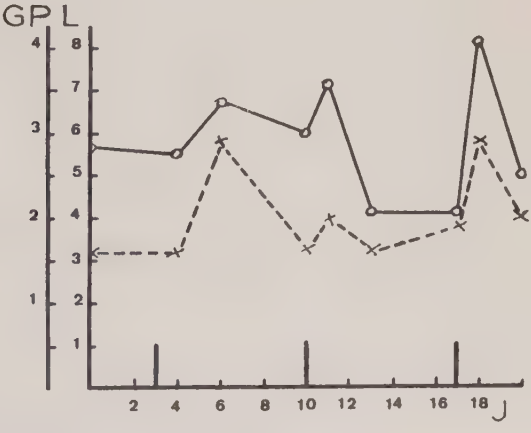

Fig. 6 (lapin 15)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène en traits verticaux sur les abscisses).

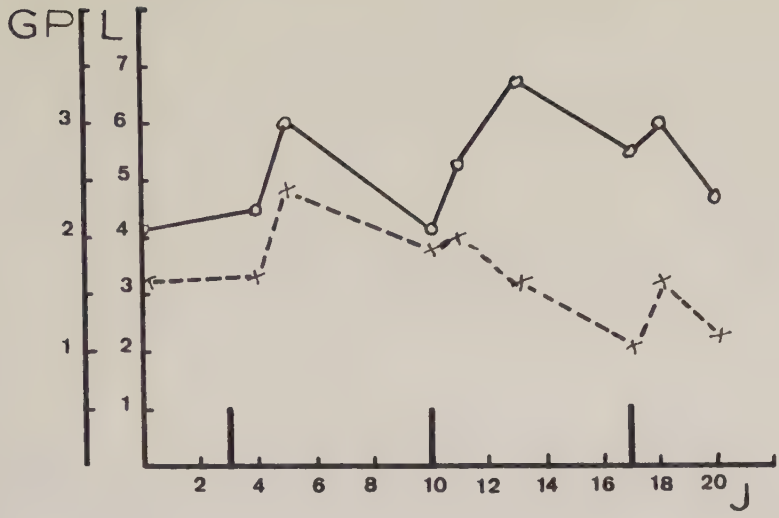

Fig. 7 (lapin 16)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

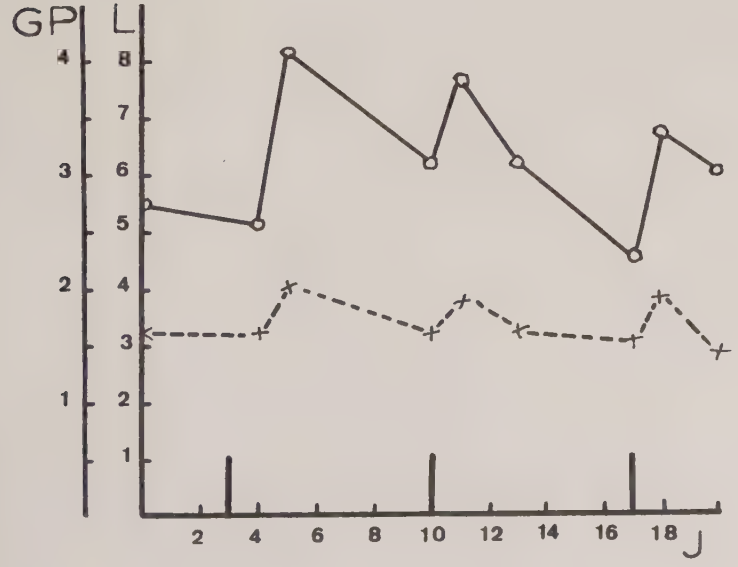

Fig. 8 (lapin 17)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

DEUXIEME SERIE D'EXPERIENCES

Les expériences rapportées à présent ont été prolongées et ont duré deux mois et parfois plus. Les injections d'antigènes ont été effectuées à intervalles réguliers (mentionnés dans chaque expérience). Les résultats obtenus dans cette seconde série d'essais sont réunis dans les tableaux n° 7, 8, 9 et 10, auxquels correspondent les courbes des figures 9, 10, 11, 12.

Tableau 7 (lapin 1)

Temps	*lipides (g/l)*	*glycoprotéines sériques (g/l)*
Départ	3,05	1,00
1er jour	injection de globules rouges de mouton	
3e jour	3,58	1,10
8e jour	3,75	0,80
10e jour	4,00	0,66
10e jour	injection de globules rouges de mouton	
11e jour	6,90	1,06
14e jour	4,00	1,02
18e jour	3,75	0,90
21e jour	2,32	0,80
21e jour	injection de globules rouges de mouton	
23e jour	5,26	1,66
28e jour	4,15	1,40
30e jour	3,50	1,03
30e jour	injection de globules rouges de mouton	
32e jour	4,18	1,16
39e jour	3,32	0,50
39e jour	injection de globules rouges de mouton	
47e jour	5,00	0,66
51e jour	5,00	0,66

Tableau 8 (lapin 2)

Temps	lipides (g/l)	glycoprotéines sériques (g/l
Départ	4,00	0,80
12e jour	3,30	0,65
	injection de globules rouges de mouton	
14e jour	3,70	0,70
19e jour	5,20	1,57
21e jour	3,75	0,60
	injection de globules rouges de mouton	
27e jour	5,00	2,60
29e jour	4,00	1,33
32e jour	2,90	1,00
	injection de globules rouges de mouton	
35e jour	3,75	2,40
40e jour	3,95	1,40
42e jour	2,50	1,22
	injection de globules rouges de mouton	
44e jour	4,50	1,13
51e jour	4,50	1,22
	injection de globules rouges de mouton	
59e jour	8,00	1,37
63e jour	7,60	1,32
65e jour	6,15	1,11
	injection de globules rouges de mouton	
68e jour	8,50	1,27
75e jour	8,00	1,00
	injection de globules rouges de mouton	
77e jour	9,10	1,51
84e jour	8,20	1,00
	injection de globules rouges de mouton	
86e jour	8,75	0,70

Tableau 9 (lapin 3)

Temps	lipides (g/l)	glycoprotéines sériques (g/l)
Départ	3,70	0,40
	injection de globules rouges de mouton	
2e jour	5,00	0,66
7e jour	4,25	0,50
9e jour	3,85	0,40
	injection de globules rouges de mouton	
10e jour	5,75	0,94
17e jour	3,50	0,73
20e jour	3,50	0,60
	injection de globules rouges de mouton	
22e jour	4,35	1,03
27e jour	4,51	0,46
29e jour	2,25	0,43
	injection de globules rouges de mouton	
31e jour	4,50	0,83
38e jour	4,12	0,66
	injection de globules rouges de mouton	
46e jour	5,00	0,56
50e jour	5,15	0,53
52e jour	3,30	0,49
	injection de globules rouges de mouton	
55e jour	4,00	0,73
62e jour	4,75	0,40
	injection de globules rouges de mouton	
64e jour	5,50	0,96
71e jour	3,90	0,67
	injection de globules rouges de mouton	
73e jour	4,30	1,03

Tableau 10 (lapin 4)

Temps	*lipides (g/l)*	*glycoprotéines sériques (g/l)*
Départ	4,00	0,57
	injection de globules rouges de mouton	
2e jour	5,00	0,66
7e jour	3,50	0,60
	injection de globules rouges de mouton	
10e jour	4,55	0,80
17e jour	2,50	0,53
20e jour	1,90	0,53
	injection de globules rouges de mouton	
22e jour	2,80	1,40
27e jour	2,70	1,03
29e jour	3,35	1,01
	injection de globules rouges de mouton	
31e jour	4,75	1,66
	injection de globules rouges de mouton	
48e jour	4,15	1,33
	injection de globules rouges de mouton	
52e jour	4,50	1,46
60e jour	4,55	1,53

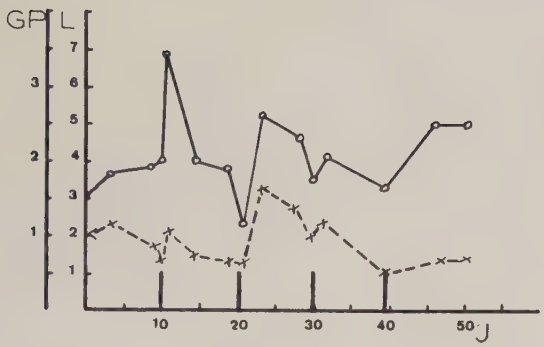

Fig. 9 (lapin 1)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

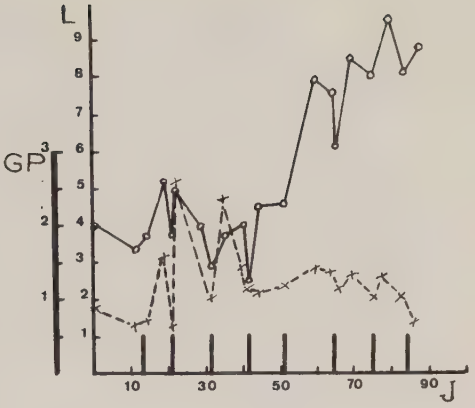

Fig. 10 (lapin 2)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

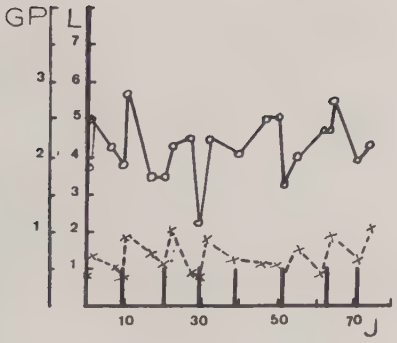

Fig. 11 (lapin 3)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

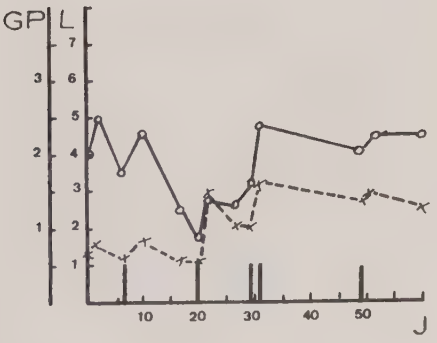

Fig. 12 (lapin 4)

Courbes représentatives des variations de la lipémie (L), en traits pleins, et de la glycoprotéinémie (GP), en pointillé (en g par litre de sérum) en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

III - DISCUSSION ET INTERPRETATION DES PHENOMENES.

L'examen des tableaux et des courbes qui leur correspondent, nous suggère quelques commentaires.

Nous noterons tout d'abord que, chez le lapin, le taux de la lipémie est normalement voisin de 4 g par litre ; parfois, il atteint un taux plus élevé (6,4 g chez le lapin n° 14), parfois un taux moins élevé (3,05 g chez le lapin n° 1). La valeur de la glycoprotéinémie est en moyenne de 1,20 g par litre ; nos chiffres extrêmes sont de 0,40 g (lapin n° 3) et de 1,88 g (lapin n° 14).

Dans nos expériences, l'augmentation du taux des lipides au cours de l'immunisation atteint 70 p. 100 en moyenne, avec des extrêmes de 9,3 p. 100 (lapin n° 14) et 175 p. 100 (lapin n° 2) ; celui des glycoprotéines acides est de 120 p. 100 en moyenne, avec des extrêmes de 20 p. 100 (lapin n° 14) et 190 p. 100 (lapin n° 4).

Dans la première série d'expériences, les injections d'hématies de mouton ont été effectuées les 3e, 10e, et 17 e jour et l'expérience a été conduite pendant vingt jours ; dans la seconde série, les injections ont été pratiquées les 13e, 21e, 32e, 42e, 52e, 65e 75e et 86e jour, et l'expérience a duré de 51 à 90 jours.

On remarquera que, dans la première série, le taux maximum de lipides et de glycoprotéines est généralement atteint le 18e jour ; seul le lapin 17 fait exception, le taux le plus élevé ayant été atteint dès le 13e jour, mais le 18e jour, on observe un taux très voisin du maximum. Ce taux correspond à la 3ème injection, soit la seconde injection de rappel. Dans la seconde série, le taux le plus élevé est généralement atteint aux environs du 23e jour, c'est-à-dire après la troisième injection de rappel.

Nous constaterons ensuite, en examinant les courbes, qu'il existe un parallélismes très net entre le taux de la lipémie et celui de la glycoprotéinémie (x) ; à part

(x) Il s'agit de glycoprotéines acides.

quelques points, inhérents à toute expérience biologique, les deux courbes suivent la même évolution. Nous noterons cependant une exception, celle qui concerne le lapin n° 2 (fig. 10) : si, en effet, nous examinons les courbes correspondant à cet animal, nous noterons que, pendant 40 jours, il existe un certain parallélisme entre les deux courbes, mais ce parallélisme n'existe plus dès la quatrième semaine : tandis que la lipémie monte rapidement pour atteindre des taux élevés, la glycoprotéinémie revient à la valeur normale. Nous reviendrons sur ce point plus loin.

Il reste maintenant à expliquer ces phénomènes.

Au cours des vingt premiers jours, nous observons toujours un parallélisme net entre la lipémie et la glycoprotéinémie : chaque fois qu'une injection d'antigène est pratiquée, le taux de la glycoprotéinémie augmente ; celui de la lipémie évolue parallèlement. Quand la première revient à sa valeur normale, la seconde fait de même. Nous estimons pour notre part que l'injection de l'antigène constitue une agression (stress) et que l'animal réagit en excrétant des glycoprotéines (voir 1ère partie). Ces glycoprotéines constituant l'inhibiteur du facteur clarifiant (TAYEAU, JOUZIER et TIXIER (69), voir 1ère partie), la dégradation des triglycérides des VLDL et éventuellement des chylomicrons ne se produit plus ; ceux-ci s'accumulent dans la circulation ; il en résulte une hyperlipémie.

Nous ne pensons pas que cette première période, au cours de laquelle nous voyons apparaître l'hyperlipémie deux ou trois jours après la première injection d'antigène, corresponde à l'apparition d'anticorps et à la formation de complexes renfermant des lipoprotéines, car nous n'imaginons pas une élaboration aussi rapide des anticorps. Selon nous, il s'agit d'un phénomène non spécifique et purement physiologique. D'ailleurs, nous avons constaté que la simple injection au lapin d'eau physiologique (lapin n° 12) amène une légère hausse de la glycoprotéinémie et de la lipémie ; si l'on renouvelle les injections chez le même animal quelques jours plus tard, le phénomène ne se produit plus : après le syndrome d'alarme, apparaît le syndrome d'adaptation (SELYE) ; il n'en est pas ainsi lorsqu'un antigène est injecté.

Peut-on dire qu'au delà du vingtième jour, la lipémie présente un caractère spécifique, du type de celui préconisé par BEAUMONT (7) ? Cela est très possible et il est intéressant à ce sujet d'examiner la courbe de la figure 10 à laquelle nous avons fait allusion plus haut : la dissociation qui apparaît après le 40ème jour entre la glycoprotéinémie et la lipémie pourrait plaider en faveur d'une telle conception ! Nous n'avons pas orienté nos expériences dans ce domaine, le but de notre travail consistant surtout à étudier les modifications de la lipémie, au cours de la première partie de la période d'immunisation. Il n'est cependant pas impossible que l'explication précédente, selon laquelle l'hyperlipémie serait non spécifique et due à l'agression soit également valable - dans certains cas tout au moins - au cours d'une période plus tardive ; BEAUMONT (7) n'a-t-il pas constaté l'apparition d'hyperlipémie à la suite de la simple injection d'adjuvant de FREUND ?

Dans les courbes des figures 9, 11 et 12, dans lesquelles l'expérience a été prolongée respectivement 50, 80 et 60 jours, nous observons effectivement un certain parallélisme entre les deux paramètres (glycoprotéinémie et hyperlipémie) au cours de toute la durée de l'expérience ! Peut-être est-ce là le mécanisme qui "restait à trouver", comme l'a écrit BEAUMONT (7) ? Il n'est pas impossible, en effet, qu'après un certain temps d'immunisation les deux phénomènes puissent exister conjointement.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE I

Dans ce premier chapitre, nous avons étudié les variations de la glycoprotéinémie et de la lipémie au cours de l'immunisation chez le lapin. Pour cela, nous avons injecté à l'animal un antigène, en l'occurence des globules rouges de mouton, puis nous avons pratiqué, à intervalles réguliers, des injections de rappel. Nous avons alors constaté qu'à la suite de chaque injection, la glycoprotéinémie subit une hausse très nette et redescend ensuite. La lipémie évolue exactement de la même façon ; il existe donc un rapport étroit entre les deux. Nous expliquerons ce rapport par le fait que les glycoprotéines constituent des inhibiteurs de la lipoprotéine-lipase, enzyme nécessaire à la dégradation des graisses et à leur métabolisme. On conçoit dès lors que ces dernières s'accumulent dans la circulation. Ceci expliquerait également l'hyperlipémie qui apparaît à la suite d'interventions chirurgicales.

Nous avons discuté enfin les rapports qui existent entre les conceptions de BEAUMONT et les nôtres.

° ° °

C H A P I T R E II

FRACTIONS LIPIDIQUES SERIQUES ET IMMUNISATION

Dans le précédent chapitre, nous avons envisagé les variations de la lipémie au cours de l'immunisation chez le lapin. Nous nous sommes alors contentée d'étudier globalement les lipides sériques. On sait cependant que , dans bien des cas, tous les lipides n'évoluent pas de la même façon ! Il nous suffit, pour en être convaincue, de reprendre les travaux classiques de FREDRICKSON, sur les diverses hyperlipémies de l'homme. Par ailleurs, le premier travail, à notre connaissance (GERO (21)), sur les modifications des lipides sériques au cours de l'immunisation ne concernait que le cholestérol. Pour cette raison, nous avons estimé opportun d'étudier les modifications des diverses substances lipidiques (triglycérides,phospholipides, cholestérol total, cholestérol estérifié).

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Les expériences auxquelles il est fait allusion dans ce chapitre constituent le complément de celles précédemment exposées, c'est-à-dire que sur les extraits lipidiques préalablement obtenus, nous avons réalisé divers dosages de subtances lipidiques.

Dans le compte rendu de nos expériences, nous retrouverons donc les mêmes animaux et nous rappellerons dans chaque cas, les valeurs de la lipémie.

Techniques utilisées.

Cholestérol total - L'extrait lipidique obtenu par la technique décrite dans le premier chapitre de cette seconde partie, est traité par le chloroforme, l'anhydride acétique et l'acide sulfurique (réaction de LIEBERMANN - BURCHARD) ; l'intensité de la coloration verte est comparée avec celle obtenue à partir d'une gamme étalon (lecture à 640 mμ).

Cholestérol estérifié - L'extrait lipidique est traité suivant une méthode dérivée de celle de FORBES (20), qui consiste à reprendre le résidu lipidique par un mélange d'alcool et d'acétone, à ajouter une solution de digitonoside et, après un certain temps de contact, de l'hexane. Après centrifugation, le liquide surnageant qui renferme le cholestérol estérifié (le cholestérol libre ayant été précipité sous forme de complexe cholestérol-digitonoside), est évaporé à sec. Sur le résidu, une réaction de LIEBERMANN-BURCHARD est effectuée et l'intensité de la coloration est évaluée comme précédemment par comparaison avec celle d'une gamme étalon.

Triglycérides - Ce dosage est effectué sur l'extrait lipidique selon la technique de RANDRUP, modifiée par JOVER (voir 30).

Cette technique consiste à effectuer une saponification des lipides à l'aide de potasse alcoolique. Le glycérol libéré est oxydé à l'aide d'acide périodique ; le méthanal formé est alors dosé, à l'aide d'une réaction colorée mettant en jeu la phénylhydrazine et le ferricyanure de potassium.

Phosphore lipidique - Le dosage est effectué sur l'extrait lipidique selon la méthode de BRIGGS (9). Après destruction sulfo-nitrique, le résidu est traité par le molybdate d'ammonium, le sulfite de sodium et l'hydroquinone. L'intensité de la coloration est comparée à celle d'une gamme étalon.

Chromatographie sur couche mince de l'extrait lipidique - La plaque est recouverte d'une couche de Kieselgel et comporte une ligne située à 2 cm environ de l'extrémité sur laquelle est déposée la solution chloroformique de l'extrait lipidique ; plusieurs dépots sont ainsi effectués, afin d'obtenir une concentration convenable. Le développement des lipides est réalisé à l'aide d'un mélange d'hexane, d'ether et d'acide acétique (80-20-1). Lorsque le solvant a migré d'environ 18 cm, on révèle les lipides à l'aide d'une pulvérisation d'une solution alcoolique (10 p. 100) d'acide phosphomolybdique. Après séchage à l'étuve, on aperçoit des taches correspondant aux stérides, triglycérides, acides gras libres, cholestérol et phospholipides.

II - IMMUNISATION ET SUBSTANCES LIPIDIQUES.

Le protocole expérimental est en tous points celui qui est décrit dans le chapitre précédent. Nous rapportons donc ici les résultats obtenus concernant les diverses substances lipidiques dont les dosages ont été pratiqués sur l'extrait lipidique.

Comme précédemment, nous avons effectué deux séries d'expériences, l'une d'une durée de vingt jours, l'autre portant sur 4 à 6 semaines.

PREMIERE SERIE D'EXPERIENCES

Les résultats de la première série se trouvent consignés dans les tableaux 11, 12, 13 et 14, auxquels correspondent les figures 13, 14, 15 et 16. Dans cette série, nous avons effectué les dosages du cholestérol total et des triglycérides.

Tableau 11 (lapin 14)

Temps	*lipides g/l*	*cholestérol g/l*	*triglycérides g/l*
Départ	6,40	1,30	0,84
3e jour	injection de globules rouges de mouton		
4e jour	6,20	1,12	0,81
6e jour	7,00	1,44	0,94
10e jour	5,35	1,12	0,81
	injection de globules rouges de mouton		
11e jour	5,35	1,12	0,94
13e jour	4,00	0,67	0,94
17e jour	4,35	1,12	0,80
	injection de globules rouges de mouton		
18e jour	7,00	1,35	"
20e jour	4,35	0,75	0,94

Tableau 12 (lapin 15)

Temps	*lipides g/l*	*cholestérol g/l*	*triglycérides g/l*
Départ	5,75	0,67	0,81
3e jour	injection de globules rouges de mouton		
4e jour	5,59	0,75	0,84
5e jour	6,75	1,35	1,10
10e jour	6,00	0,94	0,80
	injection de globules rouges de mouton		
11e jour	7,10	1,12	1,60
13e jour	4,15	0,60	0,81
17e jour	4,15	0,90	0,65
	injection de globules rouges de mouton		
18e jour	8,10	1,13	1,11
20e jour	5,00	1,00	0,81

Tableau 13 (lapin 16)

Temps	lipides g/l	cholestérol g/l	triglycérides g/l
Départ	4,15	0,67	0,48
3e jour	injection de globules rouges de mouton		
4e jour	4,50	0,94	0,56
5e jour	6,00	1,09	0,81
10e jour	4,15	0,75	0,56
	injection de globules rouges de mouton		
11e jour	5,35	1,00	0,93
13e jour	6,75	1,13	1,50
17e jour	5,50	1,20	0,80
	injection de globules rouges de mouton		
18e jour	6,00	1,40	0,94
20e jour	4,75	0,75	"

Tableau 14 (lapin 17)

Temps	*lipides g/l*	*cholestérol g/l*	*triglycérides g/l*
Départ	5,50	0,94	0,81
3e jour	injection de globules rouges de mouton		
4e jour	5,15	1,12	0,80
5e jour	8,10	1,44	0,94
10e jour	6,20	0,94	0,80
	injection de globules rouges de mouton		
11e jour	7,65	1,12	1,70
13e jour	6,15	0,94	0,93
17e jour	4,50	1,00	0,93
	injection de globules rouges de mouton		
18e jour	6,75	1,20	1,08
20e jour	6,00	0,75	"

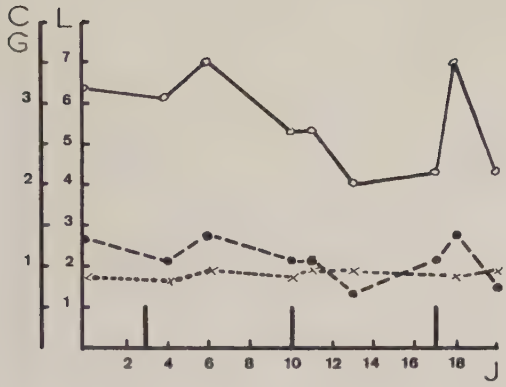

Fig. 13

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en tirets et ronds noirs) et des triglycérides (G) (en pointillé et croix) exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

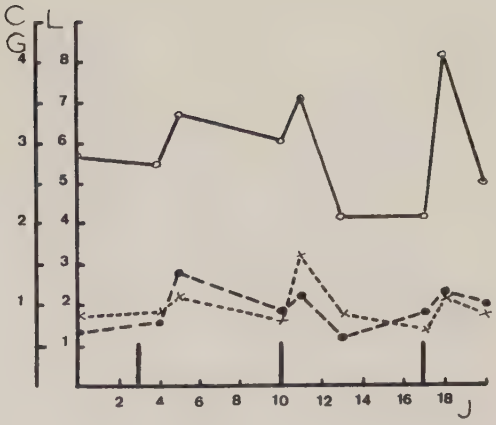

Fig. 14

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en tirets et ronds noirs) et des triglycérides (G) (en pointillé et croix) exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

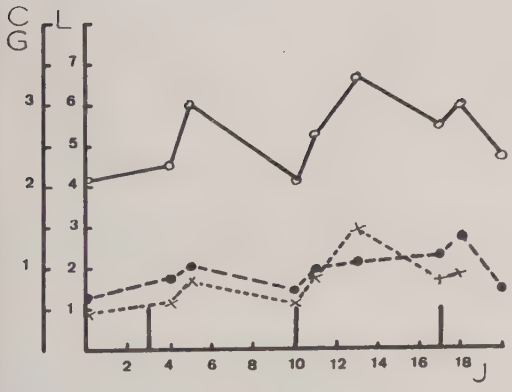

Fig. 15

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en tirets et ronds noirs et des triglycérides (G) (en pointillé et croix), exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

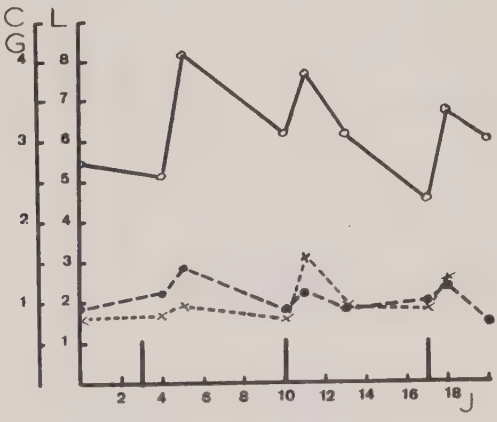

Fig. 16

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en tirets et ronds noirs) et des triglycérides (G) (en pointillé et croix) exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours-(J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

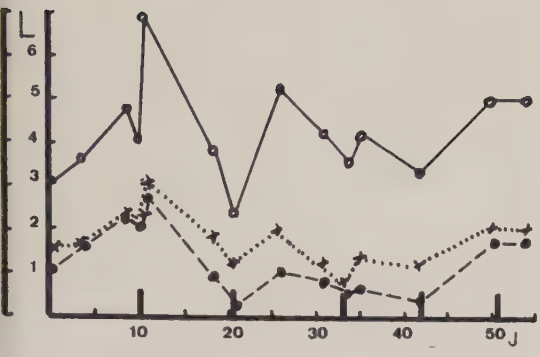

Fig. 17

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en pointillé et croix) et des triglycérides (G) (en tirets et ronds noirs), exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

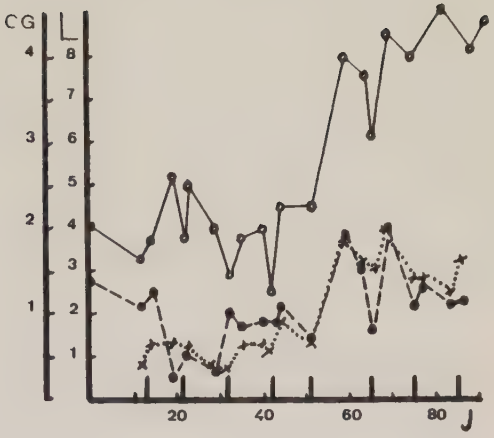

Fig. 18

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en pointillé et croix) et des triglycérides (G) (en tirets et ronds noirs), exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

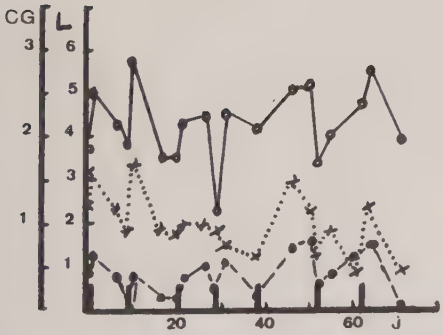

Fig. 19

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en pointillé et croix) et des triglycérides (G) (en tirets et ronds noirs), exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verti- c aux sur les abscisses).

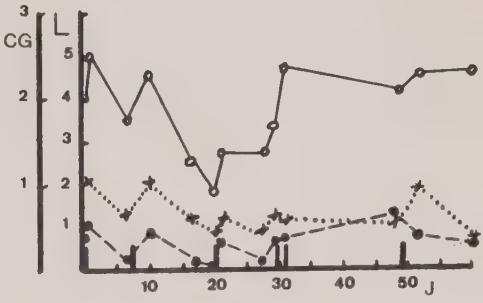

Fig. 20

Courbes représentatives des variations du taux des lipides (L) (en traits pleins et ronds blancs), du cholestérol total (C) (en pointillé et croix) et des triglycérides (G) (en tirets et ronds noirs), exprimés en g par litre, en fonction du temps (en jours) (J) et des injections d'antigène (en traits verticaux sur les abscisses).

DEUXIEME SERIE D'EXPERIENCES

Les résultats de la seconde série sont réunis dans les tableaux 15, 16, 17 et 18 auxquels correspondent les courbes des figures 17,18, 19 et 20.

Tableau 15 (lapin 1)

Temps	lipides totaux g/l	cholestérol total g/l	cholestérol estérifié g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
Départ	3,05	0,75	0,51	0,50	0,16
	injection de globules rouges de mouton				
3e j.	3,58	0,79	0,55	0,80	0,42
8e j.	4,75	1,16	0,68	1,16	0,47
10e j.	4,00	1,12	0,38	1,00	0,45
	injection de globules rouges de mouton				
11e j.	6,90	1,50	0,76	1,36	0,62
18e j.	3,75	0,90	0,57	0,45	0,50
21e j.	2,32	0,60	0,38	0,25	0,45
	injection de globules rouges de mouton				
26e j.	5,26	0,94	0,50	0,50	0,95
31e j.	4,15	0,60	0,38	0,41	0,44
33e j.	3,50	0,45	0,38	0,25	0,22
	injection de globules rouges de mouton				
35e j.	4,18	0,71	0,42	0,31	0,73
42e j.	3,32	0,60	0,34	0,20	0,44
	injection de globules rouges de mouton				
50e j.	5,00	1,01	0,61	0,80	0,78
54e j.	5,00	1,01	0,61	0,80	0,78

Tableau 16 (Lapin 2)

Temps	lipides totaux g/l	cholestérol total g/l	cholestérol estérifié g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
épart	4,00			1,40	
2e j.	3,30	0,37	0,26	1,10	
	injection de globules rouges de mouton				
4e j.	3,70	0,56	0,48	1,24	0,32
9e j.	5,20	0,60	0,53	0,25	0,42
1e J.	3,75.				
	injection de globules rouges de mouton				
2e j.	5,00	0,60	0,30	0,50	0,48
9e j.	4,00	0,42	0,19	0,30	0,36
2e j.	2,90	0,37		1,00	0,22
	injection de globules rouges de mouton				
5e j.	3,75	0,62	0,27	0,80	0,28
0e j.	3,95	0,64	0,38	0,90	0,30
2e j.	2,50	0,57	0,27	0,90	0,22
	injection de globules rouges de mouton				
4e j.	4,50	0,86	0,42	1,10	0,40
1e j.	4,50	0,67	0,34	0,70	0,26
	injection de globules rouges de mouton				
9e j.	8,00	1,80	0,88	1,90	0,73
3e j.	7,60	1,60	0,80	1,60	0,70
5e j.	6,15	1,55	0,77	0,80	0,58
	injection de globules rouges de mouton				
8e j.	8,50	1,83	1,07	2,00	0,92
5e j.	8,00	1,36	0,95	1,15	0,14
	injection de globules rouges de mouton				
7e j.	9,10	1,36	0,98	1,30	0,17
4e j.	8,20	1,25	0,83	1,10	0,14
	injection de globules rouges de mouton				
6e j.	8,75	1,70	1,67	1,20	0,19

Tableau 17 (lapin 3)

Temps	lipides totaux g/l	cholestérol total g/l	cholestérol estérifié g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
épart	3,70	1,23	0,49	0,45	0,28
	injection de globules rouges de mouton				
e j.	5,00	1,55	0,87	0,62	0,96
e j.	4,25	1,14	0,72	0,37	0,92
e j.	3,85	0,88	0,67	0,20	0,49
	injection de globules rouges de mouton				
0e j.	5,75	1,66	0,80	0,37	0,73
7e j.	3,50	0,88	0,30	0,12	0,49
0e j.	3,50	0,85	0,30	0,12	0,28
	injection de globules rouges de mouton				
2e j.	4,35	0,96	0,38	0,31	0,49
7e j.	4,51	1,03	0,41	0,50	0,61
9e j.	2,25	0,92	0,67	0,25	0,30
	injection de globules rouges de mouton				
1e j.	4,50	0,74		0,60	0,56
8e j.	4,12	0,56	0,41	0,45	0,50
	injection de globules rouges de mouton				
6e j.	5,00	1,48	0,68	0,70	0,56
0e j.	5,15	1,14	0,68	0,75	0,66
2e j.	3,30	0,63	0,30	0,25	0,49
	injection de globules rouges de mouton				
5e j.	4,00	0,88	0,38	0,38	0,56
2e j.	4,75	0,44	0,19	0,55	0,17
	injection de globules rouges de mouton				
4e j.	5,50	1,20	0,90	0,74	0,72
1e j.	3,90	0,61	0,45	0,09	0,58

Tableau 18 (lapin 4)

Temps	lipides totaux g/l	cholestérol total g/l	cholestérol estérifié g/l	triglycérides g/l	phospholipides g/l
Départ	4,00	0,88	0,45	0,35	0,14
	injection de globules rouges de mouton				
2e j.	5,00	1,03	0,60	0,52	0,72
7e j.	3,50	0,59	0,41	0,17	0,28
	injection de globules rouges de mouton				
10e j.	4,55	1,01	0,49	0,45	0,44
17e j.	2,50	0,55	0,38	0,17	0,38
20e j.	1,90	0,44	0,19	0,10	0,26
	injection de globules rouges de mouton				
22e j.	2,80	0,55	0,53	0,35	0,50
27e j.	2,70	0,37	0,37	0,19	0,22
29e j.	3,35	0,66	0,26	0,31	0,39
	injection de globules rouges de mouton				
31e j.	4,75	0,55	0,28	0,38	0,56
	injection de globules rouges de mouton				
48e j.	4,15	0,50	0,41	0,59	1,40
	injection de globules rouges de mouton				
52e j.	4,50	0,85	0,60	0,35	0,84
60e j.	4,55	0,29	0,15	0,28	0,56

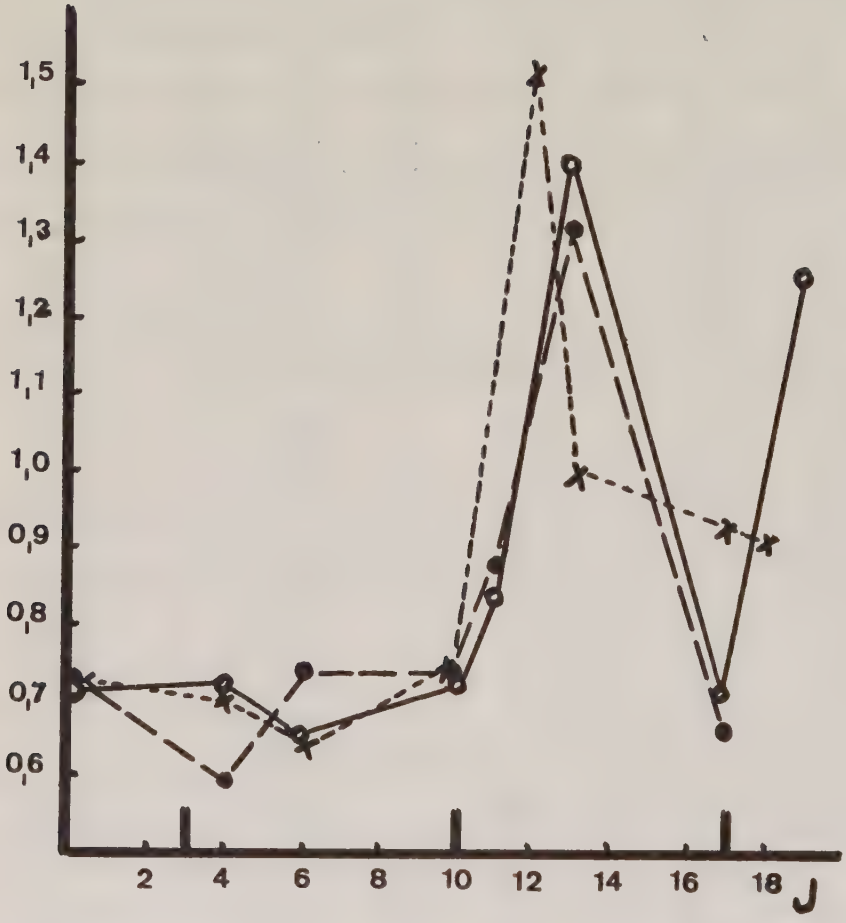

Fig. 21

Courbes représentatives des variations du rapport $\frac{\text{triglycérides}}{\text{cholestérol total}}$ pour les lapins n° 14, 16 et 17, en fonction du temps (en jours) et des injections d'antigène.

Tableau 19

Temps	*valeur du rapport* $\frac{triglycérides}{cholestérol}$		
	lapin 14	*lapin 16*	*lapin 17*
Départ	0,71	0,71	0,86
	injection de globules rouges de mouton		
4e jour	0,72	0,59	0,71
6e jour	0,65	0,74	0,65
10e jour	0,72	0,74	0,85
	injection de globules rouges de mouton		
11e jour	0,83	0,93	1,51
13e jour	1,40	1,32	0,99
17e jour	0,71	0,66	0,93
	injection de globules rouges de mouton		
18e jour	-	0,67	0,90
20e jour	1,25		

III - DISCUSSION ET INTERPRETATION .

L'examen des tableaux et des courbes de ce chapitre nous rappelle les valeurs normales des différentes substances lipidiques du sang de lapin. Le cholestérol total est de l'ordre de 0,9 g par litre avec des extrêmes au cours de nos expériences allant de 0,2 g (lapin 4) à 1,82 (lapin 2). Le taux de la triglycéridémie normale est très voisin de celui de la cholestérolémie, environ 0,80 g, avec des extrêmes au cours de nos essais allant de 0,12 (lapin 2) à 1,60 g (lapin 15). Enfin, le taux de la phospholipidémie normale se situe aux environs de 0,6 g, avec des extrêmes allant de 0,16 (lapin 1) à 0,96 (lapin 3).

Afin de pouvoir effectuer une comparaison entre les variations des diverses substances lipidiques au cours de nos expériences, nous avons établi divers rapports :

$$\frac{\text{cholestérol estérifié}}{\text{cholestérol total}}, \quad \frac{\text{cholestérol total}}{\text{lipides totaux}}, \quad \frac{\text{triglycérides}}{\text{lipides totaux}}$$

$$\frac{\text{triglycérides}}{\text{cholestérol total}}, \quad \frac{\text{phospholipides}}{\text{lipides totaux}}, \quad \frac{\text{phospholipides}}{\text{cholestérol total}}$$

Nous ne mentionnerons pas tous les chiffres obtenus, car la plus grande partie d'entre eux n'est pas significative et les variations sont pratiquement parallèles au cours de l'expérience. Il y a cependant une exception, celle qui concerne les triglycérides. Nous constatons en effet , que les rapports :

$\frac{\text{triglycérides}}{\text{lipides totaux}}$ et surtout $\frac{\text{triglycérides}}{\text{cholestérol total}}$ présentent des variations intéressantes. Nous n'indiquerons pas ici tous nos chiffres qui alourdiraient le texte ; nous indiquerons simplement les valeurs du dernier rapport pour les animaux 14, 16 et 17 (tableau n° 19 et courbe n° 21 particulièrement typiques).

Les courbes correspondant aux autres animaux, sans être superposables, présentent toutes les mêmes caractéristiques. Au début de l'expérience, l'élévation des lipides ne porte ni sur le cholestérol ni sur les triglycérides : si, en effet, on trace les courbes correspondant aux rapports $\frac{\text{triglycérides}}{\text{lipides}}$ et $\frac{\text{cholestérol}}{\text{lipides}}$, on n'observe pas de hausse caractéristique, qu'avec le rapport $\frac{\text{triglycérides}}{\text{cholestérol}}$. Au contraire, cette hausse des triglycérides se manifeste dès la seconde injection d'antigène et la hausse constatée pour les lipides correspond surtout à cette élévation des triglycérides. Comment peut-on expliquer le phénomène ?

Nous supposons qu'à ce stade, les glycoprotéines plasmatiques manifestent particulièrement leur effet inhibiteur sur le facteur clarifiant. Celui-ci n'attaque donc plus les triglycérides des fractions légères du sérum, type VLDL. Les glycérides n'étant plus dégradés s'accumulent et provoquent de l'hypertriglycéridémie ; la diminution des glycoprotéines, qui suit, lève l'obstacle.

Mais pourquoi, dans ces conditions, le phénomène ne se produit-il pas dès la première injection d'antigène ? Nous ne sommes pas en mesure, dans l'état actuel de nos travaux, de répondre à cette question.

Nous ne terminerons pas ce chapitre sans rapporter une dernière série d'essais que nous avons réalisés chez nos animaux et qui a consisté à effectuer une chromatographie des lipides à l'occasion de chaque prélèvement de sérum. Nous ne rapporterons pas tous nos essais, qui ne montrent pas de variations spectaculaires, sauf toutefois deux d'entre eux, qui confirment les remarques que nous venons de faire concernant les triglycérides (fig. 22 et 23).

La figure 22 montre pour les lapins 1 et 2 la chromatographie des lipides, effectuée au départ de l'expérience et 72 heures après l'injection d'antigène ; on ne constate alors aucune modification apparente concernant les triglycérides en particulier. La figure 23 montre pour les mêmes animaux les chromatographies réalisées avant la 3ème injection d'antigène et 24 heures plus tard ; on constate alors une augmentation très nette de la tache correspondant aux triglycérides.

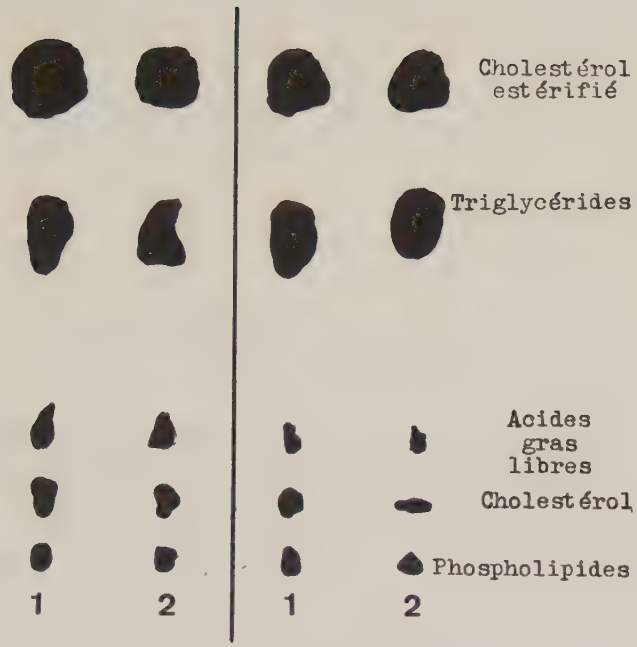

Fig. 22

Chromatographie des lipides sériques des lapins 1 et 2 avant et 72 heures après la première injection d'antigène.

Fig. 23

Chromatographie des lipides sériques des lapins 1 et 2 avant et après 24 heures après la troisième injection d'antigène.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Dans ce chapitre, nous avons étudié les variations du taux des diverses susbtances lipidiques du sérum de lapin au cours de l'immunisation. Au premier abord, il apparaît que les diverses substances lipidiques que nous avons étudiées (cholestérol total, cholestérol estérifié, triglycérides, phospholipides) évoluent parallèlement aux lipides totaux. En examinant les résultats de près et en établissant des rapports entre les lipides, on note que les triglycérides subissent les variations les plus grandes et atteignent une valeur particulièrement élevée à un certain stade de l'immunisation. Nous avons proposé une explication à ce phénomène.

C H A P I T R E III

LIPOPROTEINES SERIQUES ET IMMUNISATION

Les lipides sériques, on le sait, ne sont pas libres ; ils sont associés aux protéines en formant ce que MACHEBOEUF (33) a appelé les *cénapses lipido-protéidiques*. Les lipides sériques ne sont pas associés à n'importe quelles protéines ; ils sont supportés par les α et surtout par les β-globulines et constituent ainsi les α-lipoprotéines et les β-lipoprotéines.

Les modifications physiologiques ou pathologiques subies par les lipides intéressent donc en réalité les lipoprotéines. Les modifications de ces dernières peuvent être mises en évidence par les divers types d'électrophorèse ou par ultra-centrifugation. Elles peuvent aussi être testées par un certain nombre de réactions, relativement faciles à exécuter, et qui mettent en évidence l'excès ou le défaut d'une ou plusieurs fractions déterminées. Ces tests sont très utilisés en pathologie humaine et en particulier dans les dysfonctionnements hépatiques.

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

Techniques utilisées.

Parmi les tests intéressant les variations des lipoprotéines, nous avons étudié les suivants :

Thymol test de Mc LAGAN (34) - Cette réaction est fondée sur l'intensité du trouble produit par l'addition de sérum à une solution tamponnée de thymol. Cette réaction permet surtout de tester les γ-globulines (voir 30).

Test au bromure de cétyl-triméthyl-ammonium (cétavlon) de MARTIN et BADIN (36, 37, 38) - Cette réaction est fondée sur l'intensité du trouble produit par l'addition de sérum à une solution de cétavlon dans des conditions déterminées. Cette réaction permet de tester les α_2-globulines ; elle présente une relation étroite avec l'indice d'haptoglobine (voir 30).

Test au molybdate opacimétrique de TAYEAU et MARQUEVIELLE (70, 17, 72). - La réaction est fondée sur l'intensité du trouble obtenu par l'addition de sérum à une solution de molybdate d'ammonium dans des conditions bien déterminées. Cette réaction permet de tester les β et γ-globulines. Elle est insensible aux lipides présents.

Test au sulfate de dextrane de BURSTEIN et SAMAILLE (12, 4) - La réaction est fondée sur l'intensité du trouble obtenu par l'addition de sérum à une solution de sulfate de dextrane en présence de chlorure de calcium et dans des conditions bien déterminées. Cette réaction permet de tester les β-lipoprotéines.

Ainsi, nous avons réuni des réactions permettant d'apprécier diverses fractions protéidiques. Ces tests ont été établis pour le sérum humain, mais nous avons préalablement vérifié qu'ils restaient valables pour le sérum de lapin.

II - TESTS DE DYSPROTEINEMIE ET IMMUNISATION.

Dans une première série d'essais, on met en oeuvre quatre lapins, du même type que les précédents ; ils sont mis au repos pendant quelques jours ; un prélèvement de sang est alors effectué. Deux jours plus tard, les animaux sont immunisés (globules rouges de mouton). Quarante huit heures après l'immunisation, le sang est prélevé.

Sur les échantillons de sang, diverses analyses sont alors effectuées : dosage des lipides, dosage du cholestérol total, dosage du cholestérol estérifié, test au molybdate de TAYEAU et MARQUEVIELLE, test au sulfate de dextrane de BURSTEIN, test au cétavlon. Les résultats obtenus se trouvent réunis dans le tableau 20.

Tableau 20

Epreuves	*lapin 22*		*lapin 23*		*lapin 24*		*lapin 24*	
	avant immunisation	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*
lipides g/l	2,65	5,35	3,65	4,30	2,40	3,90	3,00	4,30
cholestérol total g/l	0,70	0,70	0,85	0,70	0,70	0,60	0,71	0,69
cholestérol estérifié g/l	0,58	0,40	0,42	0,50	0,55	0,39	0,41	0,48
acides gras estérifiés g/l	1,21	2,45	3,06	3,84	1,38	3,06	1,53	2,63
test au molybdate DV	8	8,5	5	4,5	22	27,5	5	5,5
test au sulfate de dextrane DV	15	130	37	58	27	67	19	52

DV : degrés Vernes.

Une seconde série d'essais est réalisée avec quatre autres lapins, selon le protocole précédent : cette fois le dosage du phosphore lipidique, le test au cétavlon et le test de Mc LAGAN sont également effectués. Le tableau 21 consigne les résultats.

Tableau 21

	lapin 25		*lapin 26*		*lapin 27*		*lapin 28*	
	avant immunisation	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*	*avant immunisation*	*après immunisation*
lipides g/l	3,50	5,40	2,90	3,50	2,65	4,00	2,75	4,00
cholestérol total g/l	0,82	0,82	0,67	0,60	0,60	0,75	0,97	1,12
cholestérol estérifié g/l	0,50	0,46			0,34	0,57	0,50	0,50
phospholipides g/l	0,70	0,70	0,71	0,70	0,71	0,70	0,70	0,70
acides gras estérifiés g/l	1,67	2,57	1,23	2,51	1,67	3,30	1,19	1,89
Test au molybdate (DV)	5	14	5	11	10	14	4	10
Test au sulfate de dextrane (DV)	22	73	25	41	23,5	42	19	45
Test au cétavlon (DV)	8	140	5	107	13	63	8	40
Thymol-test (DV)	1	6	1	1	2	1	1	1

DV : degrés Vernes.

III - INTERPRETATION.

Un certain nombre de remarques peuvent être formulées après l'examen de ces deux tableaux.

Il est tout d'abord intéressant de constater l'augmentation des acides gras estérifiés, qui accompagne celle des lipides totaux. Les phospholipides et le cholestérol estérifié ne se modifiant pas d'une manière significative, on peut conclure que les acides gras estérifiés concernent surtout les triglycérides. Cette conclusion confirme nos précédentes observations et apporte un argument en faveur de notre hypothèse de départ à savoir que les glycoprotéines, dont la hausse est très significative, représentent les inhibiteurs du facteur clarifiant, qui porte justement son action sur les triglycérides ; ces derniers n'étant pas hydrolysés ne suivent pas leur voie métabolique et s'accumulent.

Le test de BURSTEIN au sulfate de dextrane augmente dans tous les cas et d'une façon très nette. Cette observation montre donc une hausse des β-lipoprotéines. Cela n'est pas étonnant, puisque les VLDL, l'un des principaux substrats du facteur clarifiant, se trouvent justement dans les β-lipoprotéines. On pourrait peut-être s'étonner à priori que le test au molybdate de TAYEAU et MARQUEVIELLE ne manifeste pas une hausse plus nette ! Ce test n'est-il pas caractéristique de l'augmentation des β et des γ-globulines ? En réalité, ce résultat est logique, car le test au molybdate est absolument insensible aux lipides ; or les β-lipoprotéines renferment seulement 10 p. 100 environ de protéines et l'augmentation des protéines au sein des β-lipoprotéines est insignifiante, comparée à celle des lipides.

Le thymol-test de Mc LAGAN caractérise les γ-globulines, qui, à ce stade, alors que les anticorps n'ont pas encore été élaborés, n'ont pas de raison d'augmenter ; on comprend ainsi que les variations de ce test soient minimes ou même nulles.

Enfin, le test au cétavlon, qui met en évidence la hausse des α_2-globulines augmente nettement et dans tous les cas ; cela est absolument normal, puisque les glycoprotéines, qui inhibent le facteur clarifiant et dont la montée est caractéristique après une agression, se trouvent précisément dans les α_2-globulines.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

Nous avons étudié dans ce chapitre les variations des lipoprotéines sériques, au cours de l'immunisation chez le lapin. Pour cela, nous avons mis en oeuvre divers tests de dysprotéinémie. Nos résultats ont confirmé en tous points ceux précédemment obtenus. Ils mettent en évidence l'hyperlipémie qui suit l'immunisation et qui concerne particulièrement les triglycérides ; ils montrent que les fractions les plus particulièrement augmentées sont surtout les β-lipoprotéines et les α_2-globulines, les premières supportant les lipides, les secondes les glycoprotéines.

°°°

C H A P I T R E IV

GLYCOPROTEINES URINAIRES ET IMMUNISATION

Ainsi que nous l'avons signalé tout au début, il avait été démontré, dès 1954, que l'immunisation provoquait chez le lapin une augmentation très nette des glycoprotéines (mucoprotéines) urinaires.

Dans un premier temps, nous avons désiré savoir si, dans nos expériences, nous retrouvions cette constatation.

Dans un second temps, nous nous sommes particulièrement attachée à l'élimination urinaire des glycosaminoglycannes : REBEYROTTE et coll. (13) avaient, en effet, remarqué, à l'occasion d'expériences dont il sera fait état plus loin, que des lapins soumis à des injections de papaïne brute, éliminaient des quantités très importantes de ces substances. Les glycosaminoglycannes sont précipités par le bromure de cétyl-triméthyl-ammonium (CTB). Ceux que nous avons précipités, comme cela est généralement le cas, entraînent avec eux des protéines.

Nous avons déterminé la composition de ces derniers après les avoir isolés et nous les avons comparés à ceux qui apparaissent dans l'urine à la suite d'un autre type d'agression.

I - LES MUCOPROTEINES URINAIRES AU COURS DE L'IMMUNISATION.

Pour cette étude, nous avons effectué le dosage des mucoprotéines urinaires pendant la période d'immunisation.

. *Détermination des mucoprotéines.*

Le dosage est réalisé selon la technique de TAYEAU, JENSEN et REISS (63). Les glycoprotéines acides ou mucoprotéines possèdent la propriété d'empêcher la précipitation de la thionine par le molybdate d'ammonium en formant un complexe mucoprotéine-molybdate (35, 27) : plus la solution est riche en mucoprotéines, moins la thionine est précipitée et plus le liquide est coloré. L'intensité de la coloration indique la teneur de l'urine en mucoprotéines. Les petits ions perturbant la réaction, l'urine doit être préalablement soumise à la dialyse.

Résultats.

Avant d'exposer nos résultats, nous rappellerons le travail de base réalisé par TAYEAU (57), dont il est question ci-dessus. Cet auteur avait montré que l'injection d'antigène chez le lapin provoque une "décharge" des mucoprotéines urinaires (voir fig. 1). A cette époque, la technique de dosage de ces substances n'avait pas encore été mise au point et celles-ci étaient simplement évaluées par le test de DONAGGIO (18) et même simplement par la réaction A' du test de DONAGGIO (voir 57). Cette méthode comportait parfois d'importantes erreurs (62). Par la suite, TAYEAU, JOUZIER et SECHET (66) ont repris ces recherches et, en dosant les mucoprotéines, ont pu confirmer les premiers résultats, ainsi que le montre la courbe de la figure 24, dans laquelle on voit nettement l'accroissement des mucoprotéines urinaires, chaque fois que le lapin reçoit une injection d'antigène.

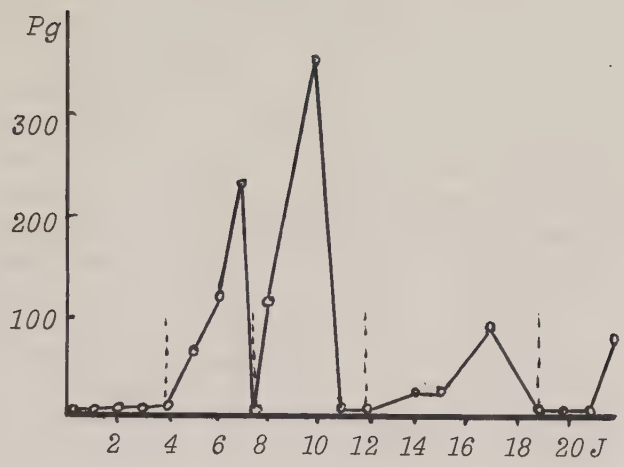

Fig. 24

Variations de l'excrétion urinaire des mucoprotéines Pg (en mg par 24 heures) en fonction du temps, en jours (J), et des injections d'antigène (en pointillé) (d'après (4)).

Les expériences que nous avons effectuées ont montré qu'à la suite des injections d'antigène, l'élimination des mucoprotéines urinaires était dans tous les cas très nettement augmentée.

Nous indiquerons, à titre documentaire, les résultats obtenus dans trois de nos expériences, celles correspondant aux lapins 15, 16, 17. Le lapin 15 présentait avant l'expérience une élimination journalière de mucoprotéines de 172 mg. Après 10 jours, l'élimination atteignait 343 mg, soit une augmentation de 99 p. 100. Le lapin 16 excrétait journellement avant l'expérience 165 mg de mucoprotéines ; le dixième jour, l'élimination atteignait 276mg et 65 p. 100 d'augmentation. Le lapin 17 éliminait 80 mg par jour de mucoprotéines ; le dixième jour, il en éliminait 240 mg, soit 200 p. 100 d'augmentation.

Nous estimons, comme TAYEAU et coll. (74), que cette excrétion très augmentée des mucoprotéines reflète l'augmentation des glycoprotéines sériques et relève du même mécanisme, dû à l'agression.

Il est probable que, suivant le type et surtout l'intensité de cette agression, on doit pouvoir identifier des glycoprotéines urinaires variées. Comme nous le verrons dans la seconde partie de ce chapitre, l'agression dûe à l'immunisation, telle que nous l'avons pratiquée, amène surtout une excrétion augmentée des glycosaminoglycannes. On sait cependant qu'une agression beaucoup plus violente, comme par exemple l'injection au rat d'une forte dose de sérum de lapin anti-rein de rat, à plus forte raison additionnée d'essence de thérébentine, amène alors l'excrétion de protéines (type albumine ou globuline) et d'une forte quantité d'haptoglobine (53, 54). Nous n'avons pas poussé plus loin cette étude, qui déborderait le cadre de notre travail.

II - NATURE DES GLYCOPROTEINES ELIMINEES EN COURS DE L'IMMUNISATION.

Il y a très longtemps que ces substances ont été entrevues et de nombreux auteurs ont signalé leur existence sous des vocables variés (voir 57). Il y a, en revanche, relativement peu de temps que l'on possède des renseignements sur leur composition et leur structure.

Certains ont pensé que ces substances pourraient fournir des renseignements éventuels sur diverses affections. Il convient à ce sujet de rappeler les recherches de ARON et coll. (voir 64), ayant postulé que, chez les cancéreux, ces substances portaient l'empreinte immunologique de la maladie. ROUSSY, OBERLING et GUERIN (48), puis BULLIARD et GREENDLAND (11), enfin TAYEAU et JOUZIER (65), mettant en oeuvre des techniques différentes, n'ont jamais pu mettre en évidence cette spécificité.

On pourrait penser encore que, suivant la nature de l'agent agressif, ces substances pourraient être différentes au point de vue physico-chimique. C'est dans le but

de résoudre ce problème que nous avons effectué cette dernière étude, qui a consisté à étudier la composition de certaines glycoprotéines urinaires ou leurs constituants, en particulier les glycosaminoglycannes, consécutifs à l'immunisation et à les comparer ensuite avec ceux qui apparaissent au cours d'une autre agression, en l'occurence l'injection de papaïne brute (REBEYROTTE et coll (13)).

THOMAS (75) a montré que l'injection de papaïne brute à des lapins provoque d'importantes modifications du tissu conjonctif ; il a prouvé en outre que la papaïne purifiée est sans action et que seule la papaïne brute est responsable des transformations observées. Il voyait dans cette action une réaction enzymatique de l'impureté rencontrée dans la papaïne brute, et supposait que cette impureté était constituée par une chymopapaïne, activée par la vitamine A (76).

REBEYROTTE et coll. (13) ont effectué par la suite une étude humorale de l'action exercée par la papaïne brute et ont étudié en détail les modifications sanguines et urinaires. Ils ont observé, entre autres choses, une hyperlipémie et une élimination importante des glycoprotéines. Ces auteurs ont étudié particulièrement l'élimination de ces dernières substances et ont constaté que, parmi elles, ce sont surtout les glycosaminoglycannes, qui subissent les plus grandes variations.

a) Techniques utilisées.

Fractionnement des urines.

Les urines des 24 heures sont soumises à la dialyse d'abord contre de l'eau courante, ensuite contre de l'eau distillée ; chaque dialyse dure une journée. Le précipité qui apparait dans certains cas est éliminé par centrifugation. Les dialysats ainsi obtenus sont concentrés à basse température et sous pression réduite (évaporateur rotatif) jusqu'à obtention d'un volume correspondant au vingtième environ du volume initial. Ainsi, nous disposons d'une solution renfermant de 10 à 15 mg de protéines.

3 ml de cette solution sont déposés au sommet d'une colonne LKB 26x40, remplie de sephadex G 25 et équilibrée avec le tampon constitué de Tris/HCL 0,1 M dans Cl Na 0,15 M à pH 8,4 ; ce tampon sert également pour l'élution. La vitesse d'écoulement est réglée à 1 ml par minute : on recueille ainsi des fractions de 5 ml sur le collecteur, relié à un dispositif d'enregistrement UVICORD permettant ainsi de suivre l'élution des fractions recherchées.

Isolement des glycosaminoglycannes de l'urine (16).

L'urine est dialysée, comme précédemment, d'abord contre de l'eau courante, ensuite contre de l'eau distillée. Le précipité éventuel est éliminé. La solution, amenée à pH 5, est additionnée du dixième de son volume d'une solution à 10 p. 100 de bromure de cétyl-trimethylammonium (CTB). Après un contact de 36 heures à + 4° C, l'ensemble est centrifugé. Tandis que le liquide surnageant est éliminé, le précipité est dissous dans une solution de Cl_2 Mg 2,5 M ; cette solution est alors additionnée de 2 volumes d'alcool absolu froid. Après un contact de 16 heures à + 4° C, l'ensemble est centrifugé. Le liquide surnageant est éliminé ; le précipité éthanolique est lavé avec de l'alcool absolu.

Dosage des protéines par la technique de LOWRY (32)

Les protéines fournissent avec le réactif de FOLIN-CIOCALTEU (à base de phospho-tungsto-molybdate), en présence d'ions cuivre, une coloration bleue, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de protéines mise en oeuvre.

Dosage des oses par la méthode de TILLMANS et PHILIPPI, modifiée par RIMINGTON (46).

L'orcinol, en milieu sulfurique concentré, fournit avec les oses à chaud une coloration orangée dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'oses mise en jeu. Il convient de signaler que la même coloration est fournie par les acides uroniques. Il conviendra, grâce aux

résultats du dosage de ces derniers, exposés ci-après, de déduire la part de la coloration due aux acides uroniques. Une solution titrée de gluconolactone, donnant une coloration identique à celle des acides uroniques, est utilisée pour déterminer la part revenant à ces derniers.

Dosage des acides uroniques par la technique de DISCHE (17).

Il est fondé sur l'intensité de la coloration fournie par le carbazol en milieu sulfurique.

Dosage des osamines selon ELSON-MORGAN (1).

Après hydrolyse acide des glycoprotéines et élimination de l'acide, le produit est traité par l'acétylacétone en milieu alcalin. Le dérivé de condensation formé réagit avec la *p*-diméthylaminobenzaldéhyde et fournit une coloration rouge violacée, dont on mesure l'intensité.

Dosage de l'acide sialique suivant SVENNERHOLM (55)

Les glycoprotéines sont hydrolysées par l'acide sulfurique et la fraction contenant les acides sialiques est recueillie sur résine Dowex X 2-8. L'acide sialique contenu dans la fraction fournit avec le résorcinol en milieu sulfurique et en présence d'ions cuivriques une coloration bleue.
Les hexoses fournissant une réaction parasite, il convient d'isoler la coloration dûe à l'acide sialique. On y parvient aisément par une extraction à l'aide d'alcool isoamylique pur. L'intensité de la coloration renseigne sur la richesse en acide sialique.

Résultats.

Nos expériences ont porté sur des lapins, dont nous avons recueilli l'urine des 24 heures, d'abord avant l'injection de l'antigène, ensuite au cours du deuxième

jour ayant suivi l'injection, c'est-à-dire lorsque l'élimination des glycoprotéines est la plus abondante (voir fig. 1). Les urines ont été traitées suivant la technique exposée ci-dessus pour l'isolement des fractions renfermant les glycosaminoglycannes ; notons que ces dernières entrainent avec elles des protéines solidement fixées.

Ces diverses fractions font l'objet de deux déterminations : d'abord la densité optique, mesurée à 280 nm, ensuite la caractérisation et l'évaluation des glycosaminoglycannes. Cette dernière recherche est effectuée sur une partie aliquote de chaque fraction : le pH est amené aux environs de 5 à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique diluée et additionnée du dixième de son volume d'une solution à 10 p. 100 de bromure de cétyl-triméthylammonium (CTB). Ce réactif précipite les glycosaminoglycannes. Les tubes donnant lieu à l'apparition d'un précipité sont notés, suivant l'importance de celui-ci par une, deux ou plusieurs croix.

Nos résultats se trouvent consignés sur les figures 25, 26 et 27 ; la figure 25 correspond au profil d'élution des fractions de l'urine témoin, les fig. 26 et 27 au profil de celles de l'urine provenant des animaux immunisés.

Nous constatons que l'urine provenant du lapin n'ayant reçu aucune injection (témoin) présente deux pics, l'un relativement important, le second plus faible. Seul le premier nous intéresse, celui renfermant les glycosaminoglycannes normalement présents dans l'urine ; le second pic, on le sait (13), contient principalement des pigments et ne concerne pas notre étude.

L'apparition du pic 1 est plus précoce chez les animaux immunisés que chez le témoin ; ceci peut s'expliquer par une augmentation de poids moléculaire. La densité optique plus élevée correspond à une concentration plus importante en glycosaminoglycannes.

Enfin, la nette apparition d'un précipité avec le sel d'ammonium quaternaire dans les fractions provenant de l'urine des animaux immunisés souligne l'abondance de l'élimination des glycosaminoglycannes.

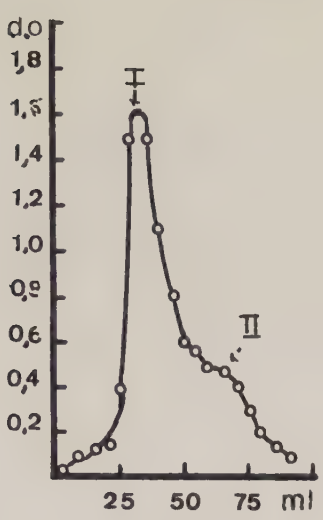

Fig. 25

Diagramme d'élution d'une urine normale de lapin. Abscisses : densité optique (280 nm) ; ordonnées : volume d'effluent.

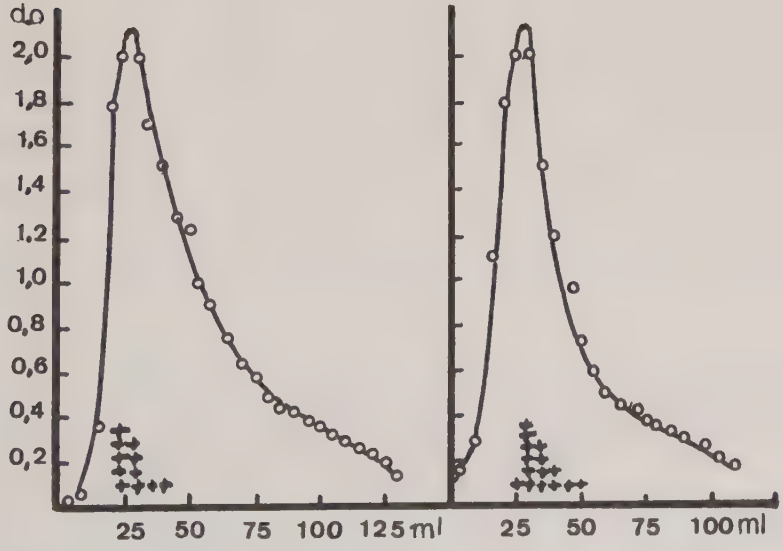

Fig. 26 et 27

Diagramme d'élution d'une urine provenant d'un lapin immunisé. Mêmes coordonnées que dans la figure 25. Les croix indiquent l'abondance du précipité du complexe glycosaminoglycannes - CTB.

Dans une autre série d'essais, nous avons isolé par élution ces pics provenant des différentes urines. Après dialyse et concentration dans des sacs de cellophane (NOJAC) soumis à un courant d'air, nous avons effectué, à l'aide des techniques précédemment exposées, les dosages des protéines totales, des oses, des acides uroniques, des osamines et de l'acide sialique. Les résultats que nous avons obtenus se trouvent consignés dans le tableau 22.

Tableau 22

Urines	*Oses totaux*	*Acides uroniques*	*Osamines*	*Acide sialique*
Urine normale (témoin)	4,1	3,2	3,0	non dosable
Urine des animaux immunisés	10,0	13,4	18,0	non dosable

Résultats exprimés en p. 100 par rapport au taux des protéines.

Dans une dernière série d'essais, nous avons isolé, à partir d'urines "positives", les glycosaminoglycannes en mettant en oeuvre la technique de CAMBIER, REBEYROTTE, ABADIE et LABBE (13) décrite précédemment.

Sur le précipité obtenu, parfaitement soluble dans l'eau distillée, nous avons effectué les mêmes dosages. Nos résultats (exprimés en % par rapport aux protéines) ont été les suivants :

. oses totaux 22,4
. acides uroniques 16,4
. osamines 17,4
. acide sialique 1,4

Ces résultats permettent de conclure que, sous l'influence d'une injection d'antigène (globules rouges de mouton dans nos expériences), nous voyons apparaître dans l'urine du lapin des glycosaminoglycannes. Ces substances sont principalement caractérisées par leur richesse en acides uroniques et leur teneur peu élevée en acide sialique.

Nous avons pu observer encore que, si les mêmes expériences sont réalisées non plus 24 heures, mais 48 heures après l'injection de l'antigène, on assiste à un retour à la normale : le pic I reste encore relativement élevé par rapport à celui correspondant au témoin, mais on n'obtient dès lors aucun précipité avec le CTB. Ce fait, qui illustre la disparition progressive des glycosaminoglycannes, apporte encore une nouvelle confirmation à nos observations antérieures.

Il est intéressant, en outre, d'établir une comparaison entre ces glycosaminoglycannes et ceux que l'on rencontre dans l'urine des lapins ayant reçu des injections de papaïne brute. En se rapportant au travail de CAMBIER, REBEYROTTE, ABADIE et LABBE (13), il est facile d'observer que, dans les deux cas, le pic I (désigné par B dans le travail des auteurs précités) présente les mêmes caractéristiques.

Nous remarquons que, dans le cas du lapin traité par la papaïne brute, il existe également, en plus du pic correspondant aux pigments (désignés par C), un pic supplémentaire (désigné par A), qui selon les auteurs correspondrait à une fraction résultant de l'action exercée par la papaïne sur la fraction B.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

Dans ce chapitre, nous avons tout d'abord rapporté nos expériences mettant en évidence l'augmentation de l'excrétion urinaire des glycoprotéines chez le lapin au cours de l'immunisation.

Nous avons ensuite étudié ces substances en les analysant. Nous avons pu montrer ainsi qu'elles étaient principalement constituées par des glycosaminoglycannes, identiques à ceux que l'on trouve dans l'urine des animaux soumis à une agression non spécifique.

CONCLUSIONS GENERALES

Notre travail a pour but d'expliquer l'hyperlipémie qui apparait chez le lapin un jour ou deux après l'injection d'un antigène. Certains types d'hyperlipémie consécutifs à l'immunisation avaient déjà été signalés jadis et avaient fait l'objet d'une importante étude de V. et J.L. BEAUMONT. Ces auteurs ont décrit deux variétés d'hyperlipémie :

1) *l'hyperlipémie précoce*, qui apparait entre la deuxième et la sixième semaine qui suit l'immunisation.

2) *l'hyperlipémie tardive*, qui se manifeste après la huitième semaine. Selon les auteurs, ces hyperlipémies s'expliqueraient par la présence dans le sang d'immunoglobulines, qui se comportent comme des auto-anticorps lipoprotéidiques et forment des complexes solubles avec les lipoprotéines circulantes ; ces complexes s'accumuleraient dans la circulation et expliqueraient l'hyperlipémie. L'exposé de ces travaux fait l'objet du premier chapitre de la partie bibliographique de notre travail.

L'hyperlipémie que nous avons spécialement étudiée est tout à fait différente des précédentes, car elle apparaît entre 36 et 48 heures après l'injection de l'antigène. Nous ne lui attribuons pas un caractère spécifique et nous expliquons le mécanisme de son apparition par une théorie faisant intervenir les glycoprotéines et le facteur clarifiant. C'est la raison pour laquelle le second chapitre de la partie bibliographique de notre thèse est consacré à ces deux importantes questions.

La seconde partie a trait à nos recherches expérimentales. Dans le premier chapitre, nous décrivons nos expériences qui consistent à injecter au lapin un antigène et à suivre l'évolution des lipides et des glycoprotéines plasmatiques. Nous sommes amenée à montrer ainsi le parallélisme étroit qui existe entre la glycoprotéinémie et l'hyperlipémie. Cette constatation nous permet alors d'expliquer le mécanisme suivant lequel l'immunisation est génératrice d'hyperlipémie ; ce mécanisme serait le suivant.

Chaque fois qu'un animal reçoit une injection d'antigène, il se trouve soumis à une agression (stress). Cette agression amène une sécrétion très augmentée des glycoprotéines, d'origine hépatique, et cela explique l'hyperglycoprotéinémie. Or certaines, parmi ces glycoprotéines, constituent les inhibiteurs naturels de la lipoprotéine-lipase (facteur clarifiant), enzyme nécessaire à l'hydrolyse de certains triglycérides, réaction nécessaire à leur métabolisme. Lorsque cet enzyme se trouve inhibé -et c'est le cas après une agression ayant amené l'hyperglycoprotéinémie-, les triglycérides n'étant plus, ou étant plus difficilement métabolisés, s'accumulent dans la circulation et amènent ainsi l'hyperlipémie.

Le second chapitre de notre étude expérimentale consiste en l'étude des substances lipidiques. C'est ainsi que nous avons étudié l'évolution du cholestérol total, du cholestérol estérifié, des phospholipides et des triglycérides au cours de l'immunisation. Nous pouvons conclure de cette étude que, parmi les diverses substances lipidiques, les triglycérides semblent le plus spécialement se modifier ; cela apporte un argument complémentaire à nos conceptions, faisant intervenir la lipoprotéine-lipase, qui intéresse justement les triglycérides.

Dans le troisième chapitre, nous avons tenu compte du fait que, dans le sérum, les divers lipides ne sont pas à l'état libre, mais sous forme de lipoprotéines. Pour cette raison, nous avons étudié, à l'aide de divers tests de dysprotéinémie, les variations de diverses fractions lipoprotéidiques et glycoprotéidiques au cours de l'immunisation. Nos résultats apportent des arguments supplémentaires en faveur de nos conceptions.

Dans un quatrième chapitre enfin, nous nous sommes attaché sur le problème des glycoprotéines urinaires. Nous avons tout d'abord étudié leur élimination au cours de l'immunisation et constaté un certain parallèlisme entre l'hyperglycoprotéinurie et la mucoprotéinémie. Nous nous sommes penchée enfin sur la composition des glycoprotéines éliminées ; nousnous demandions, en effet, si elles étaient identiques à celles qui apparaissent à la suite d'une agression de type différent. Elles sont identiques et présentent les mêmes caractéristiques que celles produites par l'injection de papaïne brute par exemple. Cette dernière notion apporte un nouvel argument à notre conception sur l'hyperlipémie qui suit immédiatement l'immunisation et qui, selon nous, est due à des facteurs non spécifiques.

B I B L I O G R A P H I E

1. ALTSCHULER (C.H.) et ANGEVINE (D.M.).- Histochemical studies on the pathogenesis of fibrinoid. Ann. J. Path., 1949, 25, 1061-1075.

2. BADIN (J.) et de BRUX (J.).- Etude et identification de deux glycoprotéides plasmatiques par les méthodes histochimiques. Ann. Biol. clin., 1952, 10, 397-399.

3. BADIN (J.) et CONAS (G.).- Tests héparine-résorcinol et réaction d'alarme de SELYE. Sem. Hôp., 1953, 29, B, 175-182.

4. BADIN (J.) et SCHMITT (F.).- Estimation turbidimétrique de la béta-lipoprotéine par la méthode de BURSTEIN. Spécificité de cette méthode. Ann. Biol. clin., 1957, 15, 469-473.

5. BAILEY (J.M.).- Influence of some immunological procedures on experimental atherosclerosis in rabbits. Rev. Athérosclér., 1967, 9, 204-219.

6. BAZIN (S.) et DELAUNAY (A.).- Les mucopolysaccharides dans les foyers inflammatoires d'évolution rapide ou lente. Exp. ann. Biochim. méd., 1970, 30, 173-187.

7. BEAUMONT (V.) et BEAUMONT (J.L.).- L'hyperlipidémie expérimentale par immunisation chez le lapin. Path. Biol., 1968, 16, 869-876.

8. BISERTE (G.), TAYEAU (F.), MONTREUIL (J.), HOLLEMAN (J.) et DAUTREVAUX (M.).- Etude chimique de la mucoprotéine responsable du phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Clin. Chim. Acta, 1956, 1, 115-121.

9. BRIGGS (A.P.).- The colorimetric determination of phosphorus. J. biol. Chem., 1922, 53, 13 et 1924, 59, 255.

10. BRUX (J. de).- Constitution histochimique de la substance fondamentale et maladies "dites du collagène". Presse méd., 1951, 59, 627-630.

11. BULLIARD (H.) et GRUNLAND (I.).- C.R. Soc. Biol., 1938, 128, 299, d'après TAYEAU et JOUZIER (65).

12. BURSTEIN (M.) et SAMAILLE (J.).- Sur une nouvelle méthode de dosage des β-lipoprotéines du sérum. Path. Biol., 1958, 6, 541-549.
Sur une nouvelle méthode de dosage du cholestérol lié aux α- et aux β-lipoprotéines du sérum. Clin. Chim. Acta, 1958, 3, 320-327.

13. CAMBIER (D.), REBEYROTTE (P.), ABADIE (A.) et LABBE (J.P.).- Etude des modifications sériques et urinaires provoquées chez de jeunes lapins par des injections intraveineuses de papaïne brute. Bull. Soc. Chim. biol., 1969, 51, 891-907.

14. CANTONE (A.).- Observation on the antilipemic action of sodium heparinate and of long acting heparin. Minerva med., 1955, 1, 230-233 ; d'après Chem. Abstr., 1955, 49, 10508e.

15. COURTOIS (J.) et PERLES (R.).- Précis de chimie biologique, 2 vol., Masson et Cie édit., Paris, 1959, t. 1, p. 312-347.

16. DI FERRANTE (N.).- Acids mucopolysaccharides of normal human urine. J. Lab. Clin. med., 1963, 61, 633-641.

17. DISCHE (Z.).- A New specific color reaction of hexuronic acid. J. biol. Chem., 1947, 167, 189-198.

18. DONAGGIO (A.).- Atti R. Acad. Sc. Modena, 1931, série IV, 3 ; d'après DONAGGIO A. Un phénomène particulier ("phénomène d'obstacle") provoqué par l'urine et le liquide céphalo-rachidien dans des conditions diverses : procédé pour sa démonstration. Rev. Neurol., 1933, 41, 155-165.

19. ELSON (L.A.) et MORGAN (W.T.V.).- Colorimetric method for the determination of glycosamin and chondrosamin. Biochem. J., 1933, 27, 1824-1828.

20. FORBES (J.C.).- Determination of cholesterol in blood plasma and serum. J. Lab. clin. Med., 1931, 16, 520-522.

21. GERO (S.), GERGELY (L.), JAKAB (L.), SZEKELY (J.), VIRAG (S.), FARKAS (K.) et CZUPPON (A.).- Inhibition of cholesterol atherosclerosis by immunization with β-lipoprotein. Lancet, 1959, II, 6-7.

22. HAHN (P.F.).- Science, 1943, 98, 19, voir (60).

23. HOLLETT (C.H.), MENG (H.C.) et WALTER (E. C.).- Some factors affecting the clearing of neutral fat emulsion by post-heparin plasma. Ann. J. Physiol., 1954, 179, 314-318.

24. HOUCK (J.C.), JOHNSTON (J.) et JACOB (R.A.).- Chemical biology of in vivo and in vitro wounds. Biochem. Pharm., special suppl., March 1968, 19, voir (26).

25. JAVILLIER (M.), POLONOVSKI (M.), FLORKIN (M.), BOULANGER (P.), LEMOIGNE (M.), ROCHE (J.) et WURMSER (R.).- Traité de Biochimie générale, 7 vol., Masson et Cie édit., Paris, 1959, t. 1 (fasc. 2), p. 935-1002.

26. JAYLE (M.F.), ENGLER (R.) et DEGRELLE (H.).- Les sialoglycoprotéines plasmatiques dans le syndrome d'agression et la croissance tissulaire. Exp. ann. Biochim. méd., 1970, 30, 149-172.

27. JENSEN (R.), MARQUEVIELLE (J.) et TAYEAU (F.).- Etude des laques formées par action du molybdate d'ammonium sur la thionine. Bull. Soc. chim., 1957, 1142-1144.

28. KORN (E.D.).- Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. I-Isolation and and characterisation of the enzyme from normal rat heart. II-Substrate specificity and activation of coconut oil. J. biol. Chem., 1955, 215, 1-14 et 15-26.

29. KUMAGAWA (M.) et SUTO (K.).- Biochem. Z., 1908, 8, 213, 250, 340 et 347.

30. LECOQ (R.).- Manuel d'analyses médicales et de biologie clinique. 3 vol., Doin édit., Paris, 1971.

31. LOMBART (C.), NEBUT (M.), OLLIER (M.P.), JAYLE (M.F.) et HARTMANN (L.).- Synthèse hépatique de l'haptoglobine (étude expérimentale chez le Rat). Rev. fr. clin. Biol., 1968, 13, 258-266.

32. LOWRY (O.H.), ROSEBROUGH (N.J.), FARR (A.L.) et RANDALL (R.G.).- Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. Chem., 1951, 193, 265-275.

33. MACHEBOEUF (M.).- Etat des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique. 1 vol., Hermann et Cie édit., Paris, 1937.

34. Mc LAGAN (N.F.).- The serum colloidal gold reaction as a liver function test. Brit. J. exp. Path., 1944, 25, 15-20.

35. MARQUEVIELLE (J.), JENSEN (R.) et JOLIN (J.) et TAYEAU (F.).- Molybdate d'ammonium et protéines sériques. Bull. Soc. chim., 1957, 1137-1141.

36. MARTIN (J.) et BADIN (J.).- Etude préliminaire d'une méthode d'estimation turbidimétrique des séromucoïdes sanguins. Ann. Biol. clin., 1957, 15, 675-682.

37. MARTIN (J.) et BADIN (J.).- Etudes sur le test au cétyltriméthylammonium (Test au cétavlon). I- Données complémentaires sur la préparation du réactif et relation du test avec les lipoprotéines. Ann. Biol. clin., 1962, 20, 471-477.

38. MARTIN (J.) et BADIN (J.).- Etudes sur le test au cétyltriméthylammonium (Test au cétavlon). II- Influence des globulines du système gamma sur le test. Ann. Biol. clin., 1962, 20, 643-649.

39. MINICK (C.R.), MURPHY (G.E.) et CAMPBELL (W.G. Jr.).- Experimental induction of atherosclerosis by the synergy of allergic injury to arteries and lipid-rich diet. I- Effect of repeated injections of horse serum in rabbits fed a dietary cholesterol supplement. J. exp. Med., 1966, 124, 635-652.

40. MONTREUIL (J.).- Les glycoprotides. Probl. act. Biochim. gén., 1972, 1, 175-269.

41. MOURAY (H.).- Biosynthèse de l'haptoglobine chez le lapin. Th. Sc., Paris, 1966.

42- MOURAY (H.), MORETTI (J.) et JAYLE (M.F.).- Biosynthèse de l'haptoglobine par perfusion de foie isolé de lapin. C.R. Acad. Sc., 1964, 259, 2721-2723.

43. POLONOVSKI (M.).- Microdosage des substances réductrices. Indice chromique. C.R. Soc. Biol., 1922, 86, 853-857.

44. POLONOVSKI (M.).- Biochimie médicale, VIIIe édition par BOULANGER P., POLONOVSKI J., TAYEAU F., MANDEL P. et BISERTE G., 3 vol., Masson et Cie édit., Paris 1971, t. 3, p. 63-76.

45. POLONOVSKI (M.) et WAREMBOURG (H.).- Détermination de l'indosé du plasma sanguin par l'indice chromique résiduel. C.R. Soc. Biol., 1931, 107, 310-316.

46. RIMINGTON (C.).- Seromucoid and the bound carbohydrate of the serum proteins. Biochem. J., 1940, 34, 931-940.

47. ROBINSON (D.S.) et FRENCH (J.E.).- Quart. J. exp. Physiol., 1953, 38, 233, voir (60).

48. ROUSSY (G.), OBERLING (C.) et GUERIN (P.).- L'action d'extraits urinaires sur les surrénales du lapin et son application au diagnostic du cancer. Presse méd., 1934, 42, 1641-1648.

49. SARCIONE (E.J.).- The initial subcellular site of incorporation of hexoses into liver protein. J. biol. Chem., 1964, 239, 1686-1691.

50. SARCIONE (E.J.).- Hepatic synthesis and secretory release of plasma α_2 (acute phase) globulin appearing in malignancy. Cancer Res., 1967, 27, 2025-2032.

51. SARCIONE (E.J.), BOHNE (M.) et KRAUSS (S.).- Evidence for humoral stimulation of serum glycoprotein synthesis by the liver. Fed. Proc., 1965, 24, 230.

52. SCEBAT (L.), RENAIS (J.), GROULT (N.), IRIS (L.) et LENEGRE (J.).- Athérose expérimentale du rat. III- Rôle des lésions préalables de la paroi artérielle par un processus immunopathologique. Rev. Athéroscler., 1967, 9, 242-248.

53. STERNBERG (M.), ENGLER (R.), CLOAREC (L.), MARCAIS (J.), PIRONNEAU (F.), REBEYROTTE (P.), LAGRUE (G.) et JAYLE (M.F.).- Excrétion pathologique d'haptoglobine et d'orosomucoïde dans les urines au cours de la glomérulonéphrite de MASUGI comme modèle expérimental pour la préparation d'haptoglobines et d'orosomucoïde de rat marqués

au ^{14}C à partir des urines. Réunion commune des Sociétés de néphrologie italienne et française. Lyon, 13 février 1971, vol. de la réunion, 249-269.

54. STERBERG (M.), MARCAIS (J.), CLOAREC (L.), MOISY (M.), DOMINGO (M.), LAGRU (G.) et JAYLE (M.F.).- Haptoglobinurie au cours de la glomérulo-néphrite de MASUGI chez le rat. Clin. Chim. Acta, 1971, 32, 123-129.

55. SVENNERHOLM (L.).- Quantitative estimation of sialic acids. II- Colorimetric resorcinol-hydrochloric acid méthod. Bioch. Biophys. Acta, 1957, 24, 604-611.

56. TAYEAU (F.).- Isolement et essais de caractérisation de la substance responsable du phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Tunisie méd., 1951, 29, 664-671.

57. TAYEAU (F.).- Le syndrome humoral de la fatigue. Le phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Exp. ann. Biochim. méd., 1954, 16, 215-252.

58. TAYEAU (F.).- Sur la constitution et la stabilité des lipoprotéines. III rd International conference on biochemical problems of lipids. Bruxelles, 1956, 35-52.

59. TAYEAU (F.), BISERTE (G.), MONTREUIL (J.) et MARQUE-VIELLE (S.).- Identification de la substance responsable du phénomène d'obstacle de DONAGGIO. C.R. Acad. Sc., 1953, 237, 208-209.

60. TAYEAU (F.), JENSEN (R.) et AUBERTIN (J.).- Le facteur clarifiant. Exp. ann. Biochim. méd., 1965, 26, 177-213.

61. TAYEAU (F.), JENSEN (R.) et REISS (D.).- Le phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Mécanisme de la réaction. Bull. Soc. Chim. biol., 1959, 41, 585-595.

62. TAYEAU (F.), JENSEN (R.) et REISS (D.).- Le phénomène d'obstacle de DONAGGIO. I- Etude comparative et critique des diverses techniques d'évaluation des mucoprotéines urinaires. Ann. Biol. clin., 1960, 18, 43-52.

63. TAYEAU (F.), JENSEN (R.) et REISS (D.).- Le phénomène d'obstacle de DONAGGIO. II- Technique nouvelle permettant l'évaluation des mucoprotéines urinaires. Ann. Biol. clin., 1960, 18, 53-58.

64. TAYEAU (F.) et JOUZIER (E.).- Recherches immuno-électrophorétiques sur la spécificité des mucoprotéines urinaires chez les cancéreux. J. Méd. Bordeaux, 1961, 138, 1154-1161.

65. TAYEAU (F.) et JOUZIER (E.).- Etude immunologique de la technique préconisée par ARON pour la recherche d'anticorps spécifiques chez les cancéreux. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1961, 100, 125-132.

66. TAYEAU (F.), JOUZIER (E.) et SECHET (J.).- Immunisation et hyperlipémie. Bull. Acad. Méd., 1971, 155, 819-823.

67. TAYEAU (F.), JOUZIER (E.) et TIXIER (M.).- Sur l'inhibiteur naturel du facteur clarifiant. Bull. Acad. Méd., 1967, 151, 521-524.

68. TAYEAU (F.), JOUZIER (E.) et TIXIER (M.).- Recherches sur les hyperlipémies expérimentales. II- Isolement et étude "in vitro" d'un inhibiteur naturel du facteur clarifiant. Bordeaux méd., 1970, 3, 1999-2009.

69. TAYEAU (F.), JOUZIER (E.) et TIXIER (M.).- Action "in vivo" de l'inhibiteur du facteur clarifiant. Bordeaux méd., 1970, 3, 2011-2013.

70- TAYEAU (F.) et MARQUEVIELLE (J.).- UN nouveau test de dysprotéinémie : le test au molybdate, application à l'hépatologie. Rev. méd. franç., 1958, 39, 133-137.

71. TAYEAU (F.), MARQUEVIELLE (J.), HEKMATIAR (F.) et JOUZIER (E.).- Un perfectionnement du test de TAYEAU et MARQUEVIELLE : la réaction au molybdate opacimétrique. I- Discussion et mise au point de la technique. Ann. Biol. clin., 1963, 21, 733-739.

72. TAYEAU (F.), MARQUEVIELLE (J.), HEKMATIAR (F.) et JOUZIER (E.).- Un perfectionnement du test au molybdate de TAYEAU et MARQUEVIELLE : la réaction au molybdate opacimétrique. II- Application clinique à l'étude des dysprotéinémies ; comparaison avec d'autres tests de floculation. Ann. Biol. clin., 1963, 21, 741-750.

73. TAYEAU (F.) et NEUZIL (E.).- A propos du phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Recherches expérimentales. L'homme sain, 1950, 1, 244-247.

74. TAYEAU (F.), NEUZIL (E.), NIVET (R.) et GROUILLE (J.).- Le phénomène d'obstacle de DONAGGIO. Recherches physico-pathologiques sur l'apparition de la mucoprotéine urinaire. J. Physiol., 1954, 46, 536-539.

75. THOMAS (L.).- Reversible collapse of rabbit ears after intravenous papain, and prevention of recovery by cortisone. J. exp. Med., 1956, 104, 245-252.

76. THOMAS (L.), Mc CLUSKEY (R.T.), POTTER (J.L.) et WEISSMANN (G.).- Comparaison of the effects of papain and vitamin A on cartilage. I- The effects in rabbits. J. exp. Med., 1960, 111, 705-718.

77. WEIMER (H.E.) et MOSHIN (J.R.).- Serum glycoprotein concentrations in experimental tuberculosis of Guinea pigs. Am. Rev. Tuberculosis, 1952, 68, 594-602.

78. WERNER (I.).- Regeneration of serum polysaccharides and serum proteins in normal and intoxicated rabbits. Acta Physiol. Scand., 1949, 19, 27-42.

Editions BERGERET 73, rue Leyteire 33000 BORDEAUX
Tél. (56) 91.12.59

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 2

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 5

CHAPITRE I : HYPERLIPEMIE ET IMMUNISATION 6

CHAPITRE II : LES GLYCOPROTEINES SERIQUES ET URINAIRES. LEURS RAPPORTS AVEC LE FACTEUR CLARIFIANT (LIPOPROTEINE-LIPASE) 11

I - NOMENCLATURE 11

II - GLYCOPROTEINES SERIQUES 13

Fraction α_1 13
Fraction α_2 14
Fraction β 14
Fraction γ 15

Autres glycoprotéines 15

III - GLYCOPROTEINES URINAIRES 17

Glycopeptides 18
Glycoproteines I 18
Glycoprotéines II 18
Mucopolysaccharides acides 18
Glycoprotéine de Tamm et Horsfall 19

PHENOMENE D'OBSTACLE DE DONAGGIO 19

IV - LE FACTEUR CLARIFIANT (LIPOPROTEINE-LIPASE) 23

Nature du facteur clarifiant 24
Le substrat 25
La clarification 25
Activateurs-inhibiteurs 25

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES EXPERIMENTALES 27

CHAPITRE I - L'HYPERLIPEMIE CONSECUTIVE A L'IMMUNISATION 28

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL 29

a) immunisation 29
b) prélèvements 30
c) techniques de dosage 30

II - GLYCOPROTEINES SERIQUES ET IMMUNISATION 31

Première série d'expériences 31
Deuxième série d'expériences 40

III - DISCUSSION ET INTERPRETATION DES RESULTATS ... 46

CONCLUSION DU CHAPITRE I 49

CHAPITRE II - FRACTIONS LIPIDIQUES SERIQUES ET IMMUNISATION 50

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL 50

Techniques utilisées 51

II - IMMUNISATION ET SUBSTANCES LIPIDIQUES 52

Première série d'expériences 52
Deuxième série d'expériences 59

III - DISCUSSION ET INTERPRETATION 64

Conclusions du chapitre II 67

CHAPITRE III - LIPOPROTEINES SERIQUES ET IMMUNISATION 68

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL 69

Techniques utilisées 69

II - TESTS DE DYSPROTEINEMIE ET IMMUNISATION 70

III - INTERPRETATION 72

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III 73

CHAPITRE IV - GLYCOPROTEINES URINAIRES ET IMMUNISATION 74

I - LES MUCOPROTEINES URINAIRES AU COURS DE L'IMMUNISATION 75

Résultats 75

II - NATURE DES GLYCOPROTEINES ELIMINEES AU COURS DE L'IMMUNISATION 77

Techniques utilisées 78

Résultats 80

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV 84

CONCLUSIONS GENERALES 85

BIBLIOGRAPHIE 87

Editions BERGERET 73, rue Leyteire 33000 BORDEAUX
Tél. (56) 91.12.59